

IMMUNHISTOCHEMISCHE CHARAKTERISIERUNG
VON RUNDZELLINFILTRATEN IN MUNDHÖHLENKARZINOMEN
UND IHREN REGIONÄREN LYMPHKNOTENMETASTASEN
MIT DER INDIREKTEN, ENZYMKONJUGIERTEN
IMMUNPEROXIDASEMETHODE
UNTERSUCHUNG DER HÄUFIGKEITSVERTEILUNG
DER IMMUNGLOBULINE IG A, IG D, IG E, IG G, IG M,
VON KAPPA - UND LAMBDAKETTEN,
SOWIE MASTZELLEN

HUBERT PIONTEK

1985

*Diss
München*





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554825_0067

Aus dem Pathologischen Institut der Universität München
Vorstand : Prof. Dr. M. Eder

Immunhistochemische Charakterisierung von Rundzellinfiltraten
in Mundhöhlenkarzinomen und ihren regionären Lymphknotenmetastasen
mit der indirekten, enzymkonjugierten Immunperoxidasemethode

Untersuchung der Häufigkeitsverteilung der Immunglobuline
Ig A, Ig D, Ig E, Ig G, Ig M, von Kappa- und Lambdaketten,
sowie Mastzellen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Hubert Piontek

aus

Neunkirchen

1985

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter : Prof. Dr. R. Bassermann

Mitberichterstatter : Prof. Dr. M. Eder

Dekan : Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung : 07.11.1985

Den Menschen,
die es gut mit mir gemeint haben

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung

- 1.1. Karzinome der Mundhöhle
 - 1.1.1. Verschiedene Arten von Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle
 - 1.1.2. Therapie der Mundhöhlenkarzinome
 - 1.1.3. Prognose der Mundhöhlenkarzinome
- 1.2. Plasmazellen, Immunglobuline und Antikörper
 - 1.2.1. Entwicklung und Bedeutung der Plasmazellen im Immunsystem
 - 1.2.2. Schematische Darstellung der Lymphozytendifferenzierung
 - 1.2.3. Struktur und Funktion von Antikörpern
 - 1.2.4. Schematische Darstellung der Antikörperstruktur
 - 1.2.5. Schematische Darstellung der verschiedenen Immunglobulinklassen

2. Material und Methode

- 2.1. Material
- 2.2. Methode
 - 2.2.1. Vorbehandlung
 - 2.2.2. Die indirekte, enzymkonjugierte Immunperoxidase-methode
 - 2.2.3. Vorversuche
 - 2.2.4. Vorgehen
 - 2.2.5. Mastzellendarstellung mit der Toluidin-Blau-Färbung
- 2.3. Auswertungskriterien
 - 2.3.1. Allgemeine Morphologie
 - 2.3.2. Quantitative Auswertung

3. Ergebnisse
 - 3.1. Allgemeine Morphologie
 - 3.2. Lokalisation und Färbemuster der Immunglobulin-haltigen Zellen
 - 3.2.1. Lokalisation der immunhistochemisch markierten Zellen
 - 3.2.2. Art und Form der immunhistochemischen Reaktionsprodukte
 - 3.3. Plasmazelluläre Verteilung
 - 3.3.1. Vergleich des Immunglobulinzell-Gehaltes in Mundhöhlenkarzinomen verschiedener Differenzierungsgrade (WHO) und ihren regionären Lymphknotenmetastasen
 - 3.3.1.1. Primärtumor
 - 3.3.1.2. Metastase
 - 3.3.2. Vergleich des Immunglobulinzell-Gehaltes in gesundem Mundhöhlengewebe, Karzinom und regionärer Lymphknotenmetastase nach Gewebeart
 - 3.3.2.1. Mundboden
 - 3.3.2.2. Zunge
 - 3.3.2.3. Tonsille
 - 3.3.2.4. Lippe
 - 3.3.2.5. Drüse, harter Gaumen
 - 3.3.3. Vergleich des Immunglobulinzell-Gehaltes aller Gewebearten in gesundem Mundhöhlengewebe, Karzinom und regionärer Lymphknotenmetastase
 - 3.3.4. Vergleich des Immunglobulinzell-Gehaltes nach der Altersverteilung
 - 3.3.5. Vergleich des Immunglobulinzell-Gehaltes in Mundhöhlenkarzinomen und ihren regionären Lymphknotenmetastasen nach dem TNM-Status
 - 3.3.6. Das Verhalten der einzelnen Immunglobulintypen untereinander
4. Diskussion
5. Zusammenfassung
6. Literaturverzeichnis

1. Einleitung :

Daß es sich bei der Entstehung, der Vergrößerung und der Ausbreitung von Karzinomen nicht um ein autonomes Wachstum in einer reaktionslosen Umgebung handelt, sondern vielmehr eine aktive Auseinandersetzung zwischen Wirt und Tumor stattfindet, läßt sich durch verschiedene Studien belegen (Prehn et Main, 1957; Klein et al., 1960; Old et al., 1961).

Klinische Hinweise auf eine mögliche Begrenzung der malignen Erkrankung ergeben sich aus beobachteten Spontanregressionen von Tumoren und Metastasen, sowie langer Überlebenszeiten nach Entfernung des Primärherdes oder der Rückbildung von Metastasen nach Operation oder Bestrahlung des Primärtumors. Auch kann eine Zunahme von malignen Erkrankungen bei Immunsuppression oder Defektimmunopathien (Wiskott-Aldrich-Syndrom, Di-George-Syndrom, Ataxia teleangiectasia) beobachtet werden, dies ist ein Hinweis, daß normalerweise das Immunsystem beim Tumorwachstum eine Rolle spielt.

Histologisch fassbare, lokale Infiltrate aus Lymphozyten, Makrophagen und Plasmazellen, die peri-, häufig aber auch intratumoral gelegen sind, werden als morphologischer Anhalt auf eine zellbedingte Immunreaktion bei der Tumorabwehr gewertet (Burkhardt, 1978).

Die gemischtzellige Infiltration, die zwischen den neoplastischen Zellen liegt, wird auch als " Stromareaktion " bezeichnet. Darunter versteht man die Gesamtheit der vom Gefäßbindegewebsapparat, sowie von zellulären und gelösten Blutbestandteilen ausgehenden Veränderungen im Tumorstroma (vom griechischen Stroma = Lager, Streu). Diese Reaktion wird durch das maligne entartete Gewebe zum Teil ausgelöst oder mitverursacht (Cottier, 1980).

Lokale, mononukleäre oder gemischtzellige Infiltrationen im Tumorrandgebiet wurden bereits Anfang dieses Jahrhunderts, noch bevor das Konzept der " immune surveillance " (Ehrlich, 1909; Thomas, 1959; Burnett, 1971) erarbeitet war,

als Abwehrreaktion oder " Heilungsvorgang " beschrieben (Petersen, 1901; Ribbert, 1916).

Spätere Autoren sahen darin jedoch lediglich chronisch-entzündliche Reaktionen auf toxische Tumorerfallsprodukte (Bohnig, 1930; Innes, 1934; Donat, 1943; Fischer, 1954). Demgegenüber sprach bereits 1929 Wallbach von einem " Immunitätsgewebe " bei Tumoren.

Ehrlich berichtete 1878 über eine erhöhte Zahl von Mastzellen im Stroma maligner Neoplasien, seit dieser Zeit versuchten verschiedene Autoren diese Ergebnisse zu bestätigen (Fromme, 1906; Staemmler, 1921; Bierich, 1922; Selye, 1965; Simu et Csaba, 1972).

Allerdings fanden einige Forscher eher weniger Mastzellen im Bereich von Tumoren als in normalem Gewebe (Lascano, 1958; Asboe-Hansen, 1973; Pepys, 1979; Alexander, 1979). Dabei wurde auch die mögliche Rolle der Mastzellen in der Abwehr neoplastischer Prozesse (Asboe-Hansen, 1957; Csaba, 1961; Fischer, 1965; Koenig, 1955) oder auch der Begünstigung des Wachstums von Karzinomzellen (Kahlson, 1968; Scott et al., 1958) diskutiert.

Wurde früher lediglich eine Beziehung des Immunsystems zum Tumorstadium vermutet, so kann heute kein Zweifel mehr bestehen, daß immunologische Interaktionen zwischen Tumor und Wirt stattfinden (Hellström et al., 1968; Hellstrom et Hellström, 1974). Die Bedeutung dieser Immunantwort und die Natur der beteiligten Antigene sind gegenwärtig weitgehend unbekannt. Auch konnte bislang kein Tumor-spezifisches Antigen identifiziert werden. Dagegen sind bei der Tumorentstehung auftretende Tumor-assoziierte Antigene gefunden worden (Übersicht bei W.B.J. Nathrath, 1978; Lachmann, 1984).

Über die einzelnen Mechanismen in der Auseinandersetzung mit malignen Erkrankungen gibt es verschiedene Modellvorstellungen, ihre genaue Bedeutung ist noch weitgehend ungeklärt. Es kann als gesichert gelten, daß neben dem thymusabhängigen T-Zellsystem auch andere zelluläre und humorale Reaktionen zum Tragen kommen.

Es werden dabei vier Prinzipien angeführt :

- T-Zell-vermittelte Zytotoxizität (Henney, 1973; Kikuchi, 1976).
- Komplement-vermittelte Zytolyse durch Ig M und Ig G (Allison, 1972).
- Antikörper-vermittelte, komplementunabhängige Zerstörung durch " natural-killer-cells " (NK-Zellen) oder Nullzell (O oder K für " Killer "-Zellen) (Cerotti und Brunner, 1974; Sanderson et al., 1975).
- Makrophagen-vermittelte Destruktion (" armed makrophages " = zytotoxische Makrophagen; Hanna et al., 1976; Hibbs, 1976).

Die Rolle der B-Lymphozyten in der Tumorabwehr scheint in der Produktion von spezifischen Antikörpern gegen Tumormembranantigene, zytoplasmatische, sowie Kernantigene zu liegen. Diese spezifischen Antikörper werden auf der Zielzelle gebunden und die Spezifität wird über einen Fc-Rezeptor auf Nullzellen vermittelt. Man spricht von einer antikörperabhängigen, zellvermittelten Zytolyse (Dean et al., 1977; Nelson et al., 1975).

Allerdings können zirkulierende Antikörper auch mit Antigenen auf Tumorzellen reagieren und damit tumorassoziierte Antigene " maskieren ", sie verhindern dadurch die Erkennung und Zerstörung der malignen Zellen durch reaktionsbereite T-Lymphozyten oder Nullzellen. Dieses Phänomen wird als immunologisches " Enhancement " bezeichnet (Hellström et Hellström, 1974).

Daß bei erhöhtem Lebensalter das Risiko an einer Neoplasie zu erkranken zunimmt, geht aus den Morbiditäts- und Mortalitätsstatistiken hervor. Über die Ursache dieses Anstiegs jedoch gibt es nur unzureichende Erklärungen. Ob es sich dabei lediglich um eine Begünstigung des Tumorwachstums (Scanlon et al., 1965) oder eine Verursachung durch eine vermehrte Insuffizienz im Bereich des Immunzellsystems handelt, bleibt zu diskutieren (Warnatz, 1977).

Durch immunhistochemische Techniken können lymphozyten mit spezifischen Antisera charakterisiert und klassifiziert werden. Derartige Untersuchungen ermöglichen Einsichten in die Art der lokalen zellulären Zusammensetzung im Tumorstroma.

Allerdings können zur Zeit retrospektive Untersuchungen an formalinfixiertem Material nur mit Antikörpern gegen menschliche Immunglobuline durchgeführt werden. T-Lymphozytenantigene sind derzeit lediglich in Gefriermaterial immunhistologisch klassifizierbar.

Da die Rundzellinfiltration in Malignomen der Mundhöhle oft sehr ausgeprägt ist, sowohl beim Primärtumor als auch bei der Metastase und die Infiltration zu einem großen Teil von antikörperhaltigen Zellen verursacht wird, stellen sich verschiedene Fragen, die in der vorliegenden Arbeit untersucht und wenn möglich, beantwortet werden sollen.

In der zellulären Infiltration des Tumorrandgebietes sind die wichtigsten Vorgänge der Interaktion des Organismus mit dem Karzinom anzunehmen, daher ist diese Region von besonderem Interesse. Die immunhistochemische Charakterisierung der Rundzellinfiltrate in Mundhöhlenkarzinomen und ihren regionalen Lymphknotenmetastasen soll folgenden Fragestellungen nachgehen :

1. Wie ist die morphologische Beschaffenheit des zellulären Infiltrates ?
2. Wie ist die Lokalisation und das Färbemuster der markierten Zellen ?
3. Gibt es eine Beziehung zwischen der Stärke der Infiltration und dem histologischen Differenzierungsgrad ?
4. Wie ist der Gehalt an Immunglobulin-haltigen Zellen im Karzinom und Lymphknotenmetastase gegenüber gesundem Gewebe, ist er vom Gewebetyp abhängig ?
5. Gibt es eine Beziehung zwischen der Stärke der Infiltration und dem Patientenalter oder dem Tumorstadium ?
6. Gibt es Unterschiede zwischen den verschiedenen Immunglobulin-Zelltypen beim Karzinom gegenüber der Metastase ?

1.1. Karzinome der Mundhöhle :

Unter dem Krebs im Mundhöhlenbereich lassen sich folgende Gebiete zusammenfassen : Lippen, Zunge, Zungengrund, Wangenschleimhaut, Mundboden, Gaumen, Zahnfleisch und in diesem Fall noch die Tonsillen. Der Anteil der Mundhöhlenkarzinome an der Gesamtkrebsstatistik beträgt ungefähr 3 - 5 %. Die Inzidenz ist im 6. und 7. Lebensjahrzehnt am höchsten, sie hat aber in den letzten 50 Jahren insgesamt stetig abgenommen. Männer sind dabei 5 - 10 mal häufiger betroffen als Frauen.

Ätiologie :

Die genaue Ätiologie ist unbekannt. Jedoch werden bestimmte begünstigende Faktoren diskutiert u.a. starkes Rauchen, Tabakkauen, chronischer Alkoholismus, chronische mechanische Reizzustände durch scharftige Zähne oder Prothesen und mangelhafte Mundhygiene. (Koch, 1974; Graham et al., 1977; Johnston, 1977)

Man unterscheidet 3 Typen von Karzinomen :

1. Plattenepithelkarzinome (squamous cell carcinoma - WHO)

Sie machen mehr als 90 % der Mundhöhlenkrebse aus, etwa 80 % davon sind gut ausdifferenziert. Histologie : Plattenepithelkarzinome bestehen aus malignen Zellen, die in breiteren und schmalen Zellgruppen wachsen. Die Tumorzellen zeigen unterschiedliche Differenzierungsgrade, welche die Grundlage für die Bestimmung des Malignitätsgrades darstellen.

Malignitätsgrad I : Der Tumor enthält zahlreiche Hornperlen, weniger als 2 Mitosen bei starker Vergrößerung (X 600), mehrkernige Riesenzellen oder atypische Mitosen sind selten, Pleomorphie ist gering.

Malignitätsgrad II : Wenig Hornperlen, ca 2 - 4 Mitosen, atypische Mitosen häufiger, Pleomorphie deutlich erhöht.

Malignitätsgrad III : Hornperlen sind selten, fehlen oft ganz, Mitosezahl über 4, atypische Mitosen nochmals vermehrt, mehrkernige Riesenzellen sind häufig, Pleomorphie der Zellen und Kerne erheblich.

2. Spindelzellige Plattenepithelkarzinome (squamous cell carcinoma, spindle cell type - WHO)

Bei dieser Variante des Plattenepithelkarzinoms sind die Zellen spindelig und ähneln denen eines Sarkoms, dabei sind Verhornungszonen selten.

3. Verruköse Karzinome (squamous cell carcinoma, verrucous type - WHO)

Hier wächst der Tumor exophytisch über die Oberfläche, die Unterlage wird dabei kaum infiltriert. Es handelt sich um Plattenepithelkarzinome, die hoch differenziert sind, eine ausgeprägte Verhornung zeigen und zahlreiche intrazelluläre Brücken aufweisen. Dieser Karzinomtyp ist von niedriger Malignität (Malignitätsgrad I) und findet sich oft in der Wangenschleimhaut oder Gingiva tabakkauender Männer.

1.1.1. Verschiedene Arten von Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle :

A. Plattenepithelkarzinom der Lippe :

Es ist das häufigste Karzinom im Mundhohlenbereich, die Inzidenz ist im 6. und 7. Lebensjahrzehnt am höchsten, wobei Männer häufiger betroffen werden als Frauen. Die Unterlippe wird 10 mal öfter befallen als die Oberlippe, das Karzinom kann multifokal auftreten, von fester Konsistenz und ulzeriert sein. Selten ist es von Keratinlamellen überzogen. Es wird eine aktinische Ätiologie diskutiert (Szpak et. al., 1977). Histologisch handelt es sich um verhornende Plattenepithelkarzinome mit niedrigem Malignitätsgrad, wobei der Tumor lokal infiltrierend wächst und erst relativ spät Lymphknotenmetastasen setzt. Hamatogene Streuung tritt spät und selten auf, die Prognose ist daher bei frühzeitiger chirurgischer und radiologischer Therapie gut.

B. Plattenepithelkarzinom der Zunge :

Das zweithäufigste Karzinom im Bereich der Mundhöhle, mit einem Altersgipfel im 6. und 7. Lebensjahrzehnt, aber auch jüngere Patienten, meist erst nach dem 20. Lebensjahr, können betroffen sein. Männer erkranken etwa im Verhältnis 7 : 1 häufiger als Frauen. Die vorwiegende Lokalisation liegt mit 75 % in den beiden vorderen Dritteln der Zunge und mit 25 % im Mundbodenbereich. Äußerst selten sind Tumoren in der Zungenmittellinie. Der Tumor ist meist fest, ulzeriert und infiltriert das umgebende und darunterliegende Gewebe, er besteht aus Zellen eines Plattenepithelkarzinoms, das verschiedene Differenzierungsgrade aufweisen kann. Durch frühzeitige Lymphknotenmetastasen und Fernmetastasierung in Lunge, Leber, Niere liegt die Gesamt-5-Jahres-Überlebenszeit nur etwa bei 50 %.

C. Plattenepithelkarzinom des Zungengrundes :

Eine Abgrenzung der Zungengrundkarzinome, die zu den Oropharynxtumoren gerechnet werden, ist durch die schlechtere Prognose gegenüber Zungenkarzinomen notwendig. Diese ist bedingt durch die meist späte Entdeckung des Tumors, seine schlechte Differenzierung (Malignitätsgrad III) und die frühe lymphogene Metastasierung. Die 5-Jahres-Überlebenszeit liegt bei ca. 30 %.

D. Plattenepithelkarzinom der Wangenschleimhaut :

Karzinome der Wangenschleimhaut sind seltener als die der Zunge, ihr Altersgipfel liegt im 7. und 8. Lebensjahrzehnt, auch hier sind Männer häufiger befallen als Frauen. Die Tumoren können multifokal entstehen, sind oft mit einer Leukoplakie verbunden und können vom ulzerierenden oder verrukösen Typ sein. Meist zeigen sie eine gute Differenzierung mit Malignitätsgrad I und II. Die lokale Infiltration mit Einbruch in die Lymphbahnen und die hämatogene Aussaat bestimmen die Prognose, in frühen Tumorstadien beträgt die 5-Jahres-Überlebensrate etwa 70 %, sinkt aber bei fortgeschrittenen Karzinomen auf 30 % ab.

E. Plattenepithelkarzinom des Mundbodens :

Mundbodenkarzinome zeigen etwa die gleiche Häufigkeit wie Tumoren der Wangenschleimhaut, ihre Inzidenz liegt im 6. und 7. Lebensjahrzehnt am höchsten, Männer sind häufiger betroffen. Das Karzinom entwickelt sich meist an der Mittellinie und ist vom ulzerierenden Typ. Histologisch entspricht es dem Malignitätsgrad II oder III. Infiltration, Lymphknotenmetastasen und hamatogene Aussaat lassen die 5-Jahres-Überlebenszeit von 70 % bei früher Diagnose auf 30 % bei fortgeschrittener Erkrankung absinken.

F. Plattenepithelkarzinom des Gaumens und Zahnfleisches :

Dieses Karzinom ist sehr selten, wobei die untere Gingiva etwa 3 mal häufiger befallen wird als die obere Gingiva, beim Gaumenkarzinom entsteht der Tumor meist im weichen Gaumen. Oft zeigt sich eine oberflächliche Ulzeration des festen, infiltrierend wachsenden Krebses. Bei früher radikaler Entfernung beträgt die 5-Jahres-Überlebensrate 70 %, sonst ca 30 %.

G. Plattenepithelkarzinom der Tonsillen :

Tonsillenkarzinome sind verhältnismäßig selten, sie machen etwa 1 % aller bösartigen Neubildungen aus. Der Altersgipfel zeigt im 5. bis 7. Jahrzehnt seinen Höchststand. Der Tumor entsteht meist einseitig, dabei ist die befallene Tonsille vergrößert, oft findet man oberflächliche Ulzerationen oder papilläres Wachstum. Dabei können Leukoplakieherde in der Umgebung zu finden sein. Der histologische Differenzierungsgrad ändert sich mit der Infiltration in die Tiefe, wobei tiefere Anteile entdifferenziert sein können. Die Prognose hängt stark vom Zeitpunkt der Diagnosestellung ab und von der Existenz von Lymphknotenmetastasen. Die Gesamt-5-Jahres-Überlebenszeit liegt bei 40 - 50 %.

1.1.2. Therapie der Mundhöhlenkarzinome :

Malignome im Mundhöhlenbereich werden nach Möglichkeit chirurgisch angegangen, es folgt eine Nachbestrahlung, die bis zu 70 Gy je nach Tumortyp reicht. Chemotherapeutisch wird eine Behandlung mit Bleomycin empfohlen, wodurch es zu einer Veränderung der Endothelzellen und dadurch zu ischämischen Nekrosen im Tumorgebiet durch thrombotische Gefäßverschlüsse kommen soll (Burkhardt et al., 1976).

1.1.3. Prognose der Mundhöhlenkarzinome :

Die Lokalisation ist ein wichtiges Kriterium für die Prognose der Mundhöhlenkrebe. An Lippen, in den beiden vorderen Dritteln der Zunge, der Wangenschleimhaut und am Gaumen finden sich vorwiegend hoch differenzierte Plattenepithelkarzinome mit dem Malignitätsgrad I. Der Zungengrund und der hintere Rachenbereich weisen oft wenig differenzierte Karzinome auf.

Für die Metastasierung gilt, daß Lippenkarzinome weniger regionäre Lymphknoten befallen als Tumoren der Zunge.

Auch ist der TNM-Status wichtig, Tumoren mit einem Durchmesser von weniger als 2 cm im Stadium T 1 haben eine bessere Prognose als in T 2 - T 4.

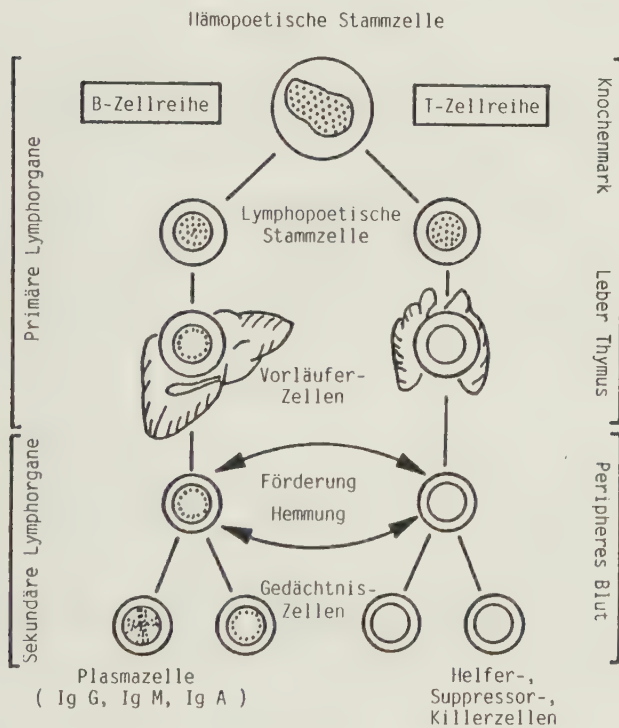
1.2. Plasmazellen, Immunglobuline und Antikörper :

1.2.1. Entwicklung und Bedeutung der Plasmazellen im Immunsystem :

Aus einer gemeinsamen hämopoetischen Stammzelle, aus der sich auch Erythrozyten, Megakaryozyten und Thrombozyten entwickeln, entsteht zuerst die lymphopoetische Stammzelle in Eidottersack, Leber und Knochenmark. Unter dem Einfluß von Hormonen differenzieren sich daraus T- und B-Vorläuferzellen. Die T-Zellentwicklung vollzieht sich im Thymus, am Anfang im Kortex, später auch in der Medulla, es werden T-Lymphozyten als Helfer-, Suppressor- oder Killerzellen in die sekundären Lymphorgane abgegeben, ihnen fällt die zelluläre Abwehr zu.

In der Leber und der Milz reifen die B-Lymphozyten heran, sie tragen verschiedene Immunglobulintypen (Ig G, Ig M, Ig A) auf ihrer Oberfläche. Auf einen antigenen Reiz hin differenzieren sie sich zu immunglobulinproduzierenden Plasmazellen und Gedächtniszellen. Die reifen Plasmazellen synthetisieren und sezernieren humorale Antikörper, dabei sind sie durch ein kraftig ausgebildetes endoplasmatisches Retikulum und einen markanten Golgi-Apparat gekennzeichnet. Spezifisch sensibilisierte T-Lymphozyten vermögen dabei fördernd oder hemmend einzuwirken. B-Lymphozyten sind Teil der humoralen Abwehr des Organismus mit der Aufgabe der Antikörperbildung.

1.2.2. Schematische Darstellung der Lymphozytendifferenzierung :
Abb. 1 :



Über mehrere Zwischenstufen entwickeln sich aus einer gemeinsamen Stammzelle T-Lymphozyten und B-Lymphozyten mit verschiedenen Immunglobulintypen. Die B-Zellen differenzieren sich auf einen antigenen Reiz hin zu antikörperproduzierenden Plasmazellen und Gedächtniszellen. Dabei können spezifisch sensibilisierte T-Lymphozyten auf den Differenzierungsprozeß der B-Zellen fördernd oder hemmend einwirken.

1.2.3. Struktur und Funktion von Antikörpern :

Antikörper sind von Plasmazellen produzierte Glykoproteine (Immunglobuline) mit einem Kohlehydratanteil zwischen 5 - 15 %, deren Synthese durch Antigene induziert wird. Ihre Grundstruktur besteht aus 4 Polypeptidketten, 2 leichten Ketten (L für light chains), welche aus 210 - 220 Aminosäureresten aufgebaut sind (Molekulargewicht $22 - 23 \times 10^3$ Dalton) und 2 etwa doppelt so langen schweren Ketten (H für heavy chains, Molekulargewicht $50 - 70 \times 10^3$ Dalton). Die H-Ketten sind durch Disulfidbrücken mit den L-Ketten verbunden, weitere Disulfidbrücken bewirken die Entstehung von kompakten, globularen Regionen innerhalb der Polypeptidkette, diese werden " Domänen " genannt und umfassen ca 110 - 120 Aminosäurereste (Edelman, 1970).

Leichte Ketten besitzen 2, schwere Ketten 4 - 5 Domänen. Die ersten Domänen vom NH 2-terminalen Ende der Polypeptidkette zeigen eine variable Primärstruktur und werden daher variable Domäne der leichten (VL) und der schweren Kette (VH) genannt. Sie sind für die spezifische Antigenbindung verantwortlich, bestehen aus ca 50 Aminosäureresten und werden als Fab (" fragment antigen binding ") bezeichnet (Seiler, 1982).

Die anderen Domänen zeigen weitgehend eine gleiche Struktur und stellen den konstanten Teil C des Antikörpers dar. Unterschiede im konstanten Bereich haben zu einer Einteilung in 5 Immunglobulinklassen geführt : Ig A, Ig D, Ig E, Ig G und Ig M.

Bei den leichten Ketten kennt man zwei verschiedene konstante Teile, die als Kappa- und Lambda-Typen bezeichnet werden. Die verschiedenen Immunglobulinklassen unterscheiden sich nicht nur in Molekulargewicht, Sedimentationskoeffizient, Halbwertszeit und Serumkonzentration, sondern vor allem in ihren biologischen Funktionen.

Immunglobulin A :

Ig A kommt in einer monomeren, dimeren und polymeren Form vor, wobei die Polymeren J-Ketten (J = junction) tragen. Besondere klinische Bedeutung hat das Sekret-Ig A, das in Speichel, Tränenflüssigkeit, Intestinalsekret und Sekreten anderer exokriner Drüsen zu finden ist. Im Serum dagegen ist es kaum vertreten. Den 2 oder 3 Grundeinheiten, die ein Dimer oder Trimer bilden, ist eine sekretorische Komponente angelagert (Thomasi, 1970). Die Komponente wird lokal von Epithelzellen der Mukosa oder exokriner Drüsen sezerniert und bewirkt eine Säurestabilität des Antikörpers. Sekret-Ig A vermag im Gegensatz zu Ig A-Molekülen im Serum weder Komplement zu binden noch zu aktivieren. Auch wirkt es nicht bakterizid. Allerdings scheint es eine bedeutende Rolle in der Lokalisierung von infektiösen Prozessen zu spielen. Ähnliche Effekte wurden für Virusinfektionen der Schleimhäute des Darmes und der Nase berichtet. Auch an der Neutralisierung bakterieller Toxine soll Ig A beteiligt sein (Schmiegel et al., 1982).

Immunglobulin D :

Es kommt sowohl im Serum als auch in der Dünndarmmukosa und dem Knochenmark vor (Rowe et al., 1968). Jedoch ist die Serumkonzentration sehr niedrig. Durch eine rasche Proteolyse besitzt Ig D nur eine Halbwertszeit von 3 Tagen (Jeffris et Mathews, 1977). Neben dem Serum-Ig D findet man auch ein membrangebundenes Ig D auf der Oberfläche von Lymphozyten als Surface-Ig D, dieses wird nicht sezerniert (Mauch, 1981). Man nimmt an, daß Ig D als Antigenrezeptor fungiert, der die Immunantwort induziert und reguliert, auch soll über eine Suppression der Antikörperproduktion eine Toleranzentwicklung möglich sein. Über das Serum-Ig D ist relativ wenig bekannt, so wird vermutet, daß es bei der Entstehung von Autoaggressionskrankheiten als Autoantikörper gegen Kernantigene beteiligt ist.

Immunglobulin E :

Das Ig E besitzt eine sehr hohe Affinität gegenüber spezifischen Rezeptoren von Mastzellen und basophilen Granulozyten. Zellgebundenes Ig E kann in seiner Bindung für Wochen oder Monate verbleiben. Ig E-Immunglobuline sind als Reagine für die Auslösung anaphylaktischer und allergischer Reaktionen verantwortlich.

Immunglobulin G :

Antikörper der Klasse Ig G machen etwa 75 - 80 % aller Immunglobuline im Organismus aus, dabei lassen sie sich in 4 Subklassen gliedern (Ig G 1, Ig G 2, Ig G 3, Ig G 4). Da auch in der Primärstruktur der H-Ketten Unterschiede bestehen, schließt man auf den Einfluß getrennter Gene. Die verschiedenen Subklassen unterscheiden sich in der Bindung an Makrophagen, dazu sind Ig G 2 und Ig G 4 nicht in der Lage. So können Ig G 4-Antikörper die Phagozytose weniger wirkungsvoll einleiten als die Immunglobuline anderer Unterklassen.

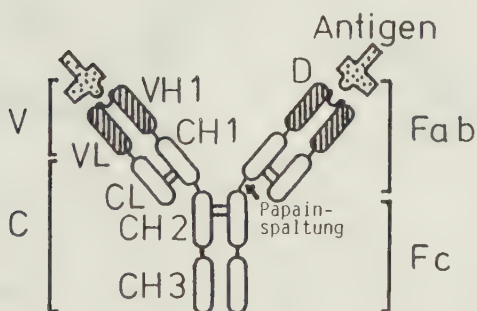
Ig G ist fähig, Komplement direkt über C 1 q zu aktivieren, wodurch es zur Lyse von Zellen (Tumorzellen, Bakterien) durch die C 6 - C 9 Komponenten kommt. Auch ist Ig G das einzige Immunglobulin, das die Plazentarschranke überwinden kann, um den passiven Immunschutz für den Säugling zu übernehmen. In geringem Maße passiert es auch das Nierenfilter und kann im Harn nachgewiesen werden. Ferner überwiegt das Immunglobulin G in Körperflüssigkeiten und extravasal bei der Sekundärreaktion. Es ist bei Opsonierungsvorgängen und an der Phagozytose beteiligt. Auch findet es sich auf der Oberfläche von Makrophagen und K-Zellen, somit ergibt sich eine Funktion als Zellrezeptor, mit der Möglichkeit, Antigene zum Ort des Abbaus oder der Eliminierung zu transportieren. Ig G kann aber im Falle einer pathologischen Entwicklung der Fc-vermittelten Reaktionen Bedeutung erlangen (Sedlacek, 1980)

Immunglobulin M :

Ig M bildet ein Pentamer und mit einem Molekulargewicht von 900 000 Dalton kann es als Makroglobulin bezeichnet werden. Bei der Komplementbindung ist es wesentlich aktiver als Ig G, so genügt ein einziges Molekül für die Sensibilisierung eines Erythrozyten (Bier, 1979). Auch es vermag Komplement auf direktem Wege über C 1 q zu aktivieren. Es kann zu Agglutination führen und ist der natürliche Antikörper der ersten Abwehrphase in der Primärreaktion. Dabei ist Ig M von besonderer Effizienz für die Lyse von Bakterien. Die Hauptaufgabe des Immunglobulins M besteht darin, in die Blutbahn eingedrungene Mikroorganismen im Gefäßsystem zu eliminieren. Antikörper gegen gramnegative Bakterien gehören zumeist der Ig M-Klasse an. Bei Ig M-Mangel kommt es häufig zu septischen Prozessen.

1.2.4. Schematische Darstellung der Antikörperstruktur :

Abb. 2 :



Die Abbildung zeigt den schematischen Aufbau eines Immunglobulinmoleküls vom Ig G-Typ mit den Domänen VL und CL der leichten Kette, sowie VH, CH 1, CH 2 und CH 3 der schweren Kette. VL und VH bilden zusammen die Haftstelle für die Determinante (D) des Antigens. CH 2 und CH 3 sind für unspezifische Effektorfunktionen (Komplementbindung, Bindung an Zellmembranen) verantwortlich. V bezeichnet den variablen, C den konstanten Teil des Moleküls, Fab steht für " fragment antigen binding ", Fc stellt den Teil der schweren Kette nach Papainspaltung dar.

Neben isotypischen Varianten (Subklassen von Ig A und Ig G) existieren auch allotypische Unterschiede, die nach den Mendel-Regeln vererbt werden: Gm-Marker bei Ig G, Am-Marker bei Ig A und In v bei Kappa-Ketten.

(Natvig, 1971; Natvig, 1973)

1.2.5. Schematische Darstellung verschiedener Immunglobulinklassen :
Abb. 3 :

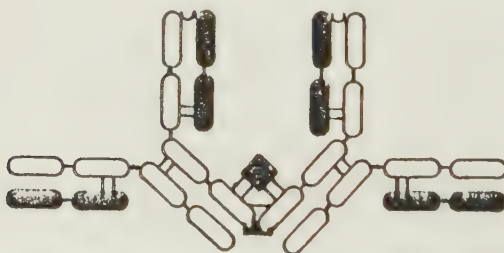


Ig G : MG 160 000 ; 7 S

Ig E : MG 190 000 ; 8 S

Ig D : MG 170 000 ; 7 S

Ig A : MG 160 000 ; 7 S (Monomer)



Ig A : MG 400 000 ; 11 S (sekretorisch; Dimer)

das sekretorische Ig A besitzt zusätzlich eine Polypeptidkette (J = junction; MG 15 000) und das " secretory piece ", ein Polypeptid mit MG 65 000 Dalton.

(Koshland, 1975)

Schwere Kette (H)	:	
Leichte Kette (L)	:	
Disulfidbrücke	:	
Junction-Kette	:	
Secretory piece	:	

Ig M : MG 900 000 ; 19 S (Pentamer)



Im Gegensatz zu Ig G, Ig A und Ig D besitzen Ig M und Ig E vier konstante Domänen in ihren schweren Ketten. Alle Klassen können sowohl mit Kappa als auch mit Lambda-Ketten kombiniert auftreten. Dabei vermögen Ig G und Ig M das Komplementsystem direkt über die Bindung von C 1 q zu aktivieren, den anderen Immunglobulinen gelingt dies nur auf dem indirekten Weg, der auch ohne Antikörper ablaufen kann.

2. Material und Methode :

2.1. Material :

Das Untersuchungsmaterial wurde aus den routinemaßig eingesandten Operationsresektaten am Pathologischen Institut der Universität München gewonnen.

Es entstammte vorwiegend Neck-dissection-Operationen, die zwischen 1972 - 1981 in verschiedenen Kliniken (Klinikum Großhadern, Zahnklinik der Universität, Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenkrankheiten der Universität München) vorgenommen wurden.

Wesentliche Kriterien für die Auswahl bildeten das Vorhandensein einer Metastase und eine Mindestgröße von Primärtumor und Absiedlung von 1 cm.

Insgesamt wurden 23 Fälle von Mundhöhlenkarzinomen mit ihren regionären Lymphknotenmetastasen untersucht.

Dabei ergab sich eine Zusammensetzung entsprechend der unterschiedlichen Herkunft des Primärtumors, wie aus Tabelle 1 ersichtlich.

Tabelle 1 : Anzahl der Fälle nach Lokalisation des Primärtumors :

lokalisierung	Fallzahl
Mundboden	9 Fälle
Tonsille	4 Fälle
Zunge	6 Fälle
Lippe	2 Fälle
Glandula submandibularis	1 Fall
Harter Gaumen	1 Fall

Daneben bildeten insgesamt 11 Proben von normal beschaffenem Mundhöhlen-
gewebe unterschiedlicher Herkunft (Mundboden, Zunge, Tonsille, Drüsen,
Gaumen) die Referenzfälle. Diese Patienten litten nicht an einem Karzinom
oder entzündlichen Erkrankungen, insbesondere der Mundhöhle.

Bei der Geschlechtsverteilung entfielen auf

männliche Patienten	: 18 Fälle
weibliche Patienten	: 5 Fälle

Das Durchschnittsalter der männlichen Patienten lag bei 59,8 Jahren, das
der weiblichen Patienten bei 65,8 Jahren.

Das Gesamtdurchschnittsalter beider Gruppen betrug 62,8 Jahre.

2.2. Methode :

2.2.1. Vorbehandlung :

Die Resektate waren in Formalin fixiert, repräsentative Gewebeproben wurden
in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert und in Paraffin eingebettet.
Von den Paraffinblöcken wurden auf einem üblichen Mikrotom ca 3 - 4 µm dicke
Gewebeschnitte angefertigt, die auf Serunglycerin (Fa. Chroma) beschich-
teten Objektträgern aufgezogen wurden.

Die Schnitte wurden im Trockenschrank bei 60° C mindestens 24 Stunden ge-
trocknet. Danach wurden sie in Xylol und einer absteigenden Alkoholreihe
entparaffiniert.

2.2.2. Die indirekte, enzymkonjugierte Immunperoxidasemethode :

Zur Darstellung der immunhistochemischen Reaktionen im Tumorrandgebiet wurde die indirekte, enzymkonjugierte Immunperoxidasemethode verwendet (Taylor, 1974; Nathrath et al., 1982). Sie kann als genügend erprobt angesehen werden (Taylor, 1978; Burns, 1978; Taylor et Burns, 1974; DeLellis et al., 1979; Banks, 1979).

Bei dieser Technik werden in Folge zwei Antiseren in die Reaktion auf dem Gewebeschnitt eingebracht. Man überschichtet das ungefärbte histologische Präparat mit einem Antiserum gegen das darzustellende Peptid und es kommt zur Bildung von Immunkomplexen.

Dabei enthält das erste Antiserum spezifische Antikörper gegen das gesuchte Antigen (hier menschliche Immunglobuline), gleichzeitig dient es als Antigen für den Antikörper des zweiten Serums, der mit Peroxidase markiert ist (Nakane et Pierce, 1966).

Das Enzym Peroxidase katalysiert in einem weiteren Reaktionsschritt mit Hilfe von H_2O_2 die Oxydation eines in die immunhistochemische Reaktion eingebrachten Farbstoffes (3-Amino-9-Ethylcarbazole).

Dadurch werden die Farbstoffmoleküle jeweils an den mit Peroxidase markierten Gewebebestandteilen oxydativ zu einem unlöslichen, roten Farbkomplex polymerisiert (Kräutle et al., 1982).

Prinzip der indirekten, enzymkonjugierten Immunperoxidasemethode :

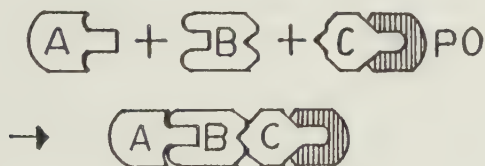
A Biochemische Vorbehandlung der Gewebeschnitte :

Proteolytische Aufbereitung des Gewebes, sowie Blockade der endogenen Peroxidase zur Verhinderung unspezifischer Reaktionen.

B Immunologische Reaktion :

Das gesuchte Antigen A reagiert mit dem spezifischen Antikörper B, der gleichzeitig antigene Eigenschaften gegenüber dem mit Peroxidase markierten Antikörper C besitzt.

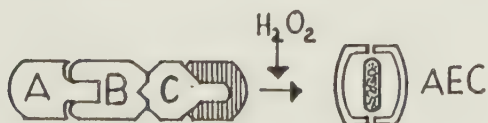
Es entsteht der Immunkomplex A-B-C.



C Färbereaktion :

Das fixierte Enzym Peroxidase katalysiert die Oxydation des Farbstoffes 3-Amino-9-Ethylcarbazole (AEC) durch H_2O_2 .

Es entsteht ein unlöslicher roter Farbkomplex zur mikroskopischen Lokalisation der gesuchten Immunglobulin-haltigen Zellen.



2.2.3. Vorversuche :

Zur Vermeidung unspezifischer Reaktionen und zur Ermittlung der optimalen Serumverdünnungen bei den immunhistochemischen Untersuchungen waren umfangreiche Vorversuche notwendig.

Dabei wurden bekannte, bereits ausgetestete Probeschnitte eines Ig G produzierenden Plasmozytoms, Darmschleimhaut und lymphatisches Gewebe verwendet.

Zum enzymatischen Aufschluß des Gewebeverbandes und besseren Darstellung der gesuchten Immunglobulin-haltigen Zellen wurde eine Proteasevorbehandlung versucht (Denk et al., 1977; Takamiya et al., 1978).

Hierzu wurde eine Inkubation der Proben mit dem Enzym Protease Typ VII 0,1 % während 30, 60, 120 Minuten und 12 Stunden bei 37° C vorgenommen. Jedoch zeigte sich dabei kein Vorteil gegenüber einer 15-minütigen Proteasebehandlung bei Zimmertemperatur.

Hintergrundreaktionen, vor allem des Kollagens konnten durch die Überschichtung mit normalem Ziegenserum in unterschiedlicher Verdünnung (1 : 1; 1 : 5; 1 : 10; 1 : 20; 1 : 50) reduziert werden. Ab einer Verdünnung von 1 : 10 war keine Hintergrundreaktion mehr erkennbar.

Für die einzelnen Immunglobulinseren wurden folgende Verdünnungen ausgetestet

Ig A : 1 : 400; 1 : 800; 1 : 1000; 1 : 1300; 1 : 1600

Ig D : 1 : 40; 1 : 80; 1 : 100

Ig E : 1 : 100; 1 : 200; 1 : 300

Ig G : 1 : 500; 1 : 1000; 1 : 2000

Ig M : 1 : 100; 1 : 200; 1 : 400

Kappa : 1 : 1000; 1 : 2000

Lambda : 1 : 1000; 1 : 2000

Durch diese Vorversuche ergaben sich die besten Serumverdünnungen, wie sie aus Tabelle 2 zu entnehmen sind.

Tabelle 2 : Verwendete Antiseren und ihre optimalen Verdünnungen :

Antiserum	Spezifität und Verdünnung
Ig A	Spezifisch für alpha-Ketten und die sekretorische Komponente Verdünnung 1 : 800
Ig D	Spezifisch für delta-Ketten Verdünnung 1 : 80
Ig E	Spezifisch für epsilon-Ketten Verdünnung 1 : 300
Ig G	Spezifisch für gamma-Ketten Verdünnung 1 : 1000
Ig M	Spezifisch für my-Ketten Verdünnung 1 : 200
Kappa	Leichte Ketten Verdünnung 1 : 1000
Lambda	Leichte Ketten Verdünnung 1 : 1000

Die Seren stammten vom Kaninchen und waren spezifische für humane Immunglobuline.
 Alle Antisera gegen Human-Immunglobulin wurden von der Fa. Dakopatts a/s,
 Kopenhagen; Vertrieb für die Bundesrepublik Deutschland : Boehringer
 Ingelheim, Diagnostika GmbH, D 8046 Garching bei München bezogen.

2.2.4. Vorgehen :

Die gesuchten Immunglobuline wurden im Gewebe auf folgende Weise dargestellt :

A. Biochemische Vorbehandlung :

- 15 min Protease Typ VII 0,1 % (Fa. Sigma Chemie GmbH, Neubiberg)
- 5 min Blockierung der endogenen Peroxidase mit H_2O_2 7,5 %, sowie
- 5 min Perjodsäure 2,28 % und weiteren
- 2 min Natriumborhydridlösung 0,02 %.

B. Immunologische Reaktion :

- 5 min Überschichtung und Inkubation mit normalem Ziegenserum (1 : 10)
zur Blockierung unspezifischer Hintergrundreaktionen.
(Fa. Nordic Immunological Laboratories, Tilburg/Niederlande)
- 15 min spezifische Anti-Human-Immunglobulinantikörper vom Kaninchen.
- 15 min Peroxidase-markierte Antikörper von einer Ziege gegen Kaninchen-Ig G (1 : 500).
(Fa. Nordic Immunological Laboratories, Tilburg/Niederlande)

C. Färbereaktion :

- 30 min Färbung mit 3-Amino-9-Ethylcarbazol (AEC) - H_2O_2 -Lösung
(Fa. Sigma Chemie GmbH, Neubiberg).
- 2 min Gegenfärbung mit Mayer's Hämalaun.

Zwischen den einzelnen Schritten wurde mit " Phosphate buffered Saline = PBS " oder Brjglosung während mindestens 10 min gespült. Zur Überprüfung der Spezifität der ersten Antikörperreaktion wurde zu jedem Fall ein Kontrollschnitt angefertigt und mit PBS statt des spezifischen Antikörpers über 15 min inkubiert.

Die gewählte immunhistochemische Methode bietet folgende Vorteile :

1. Routinemäßig in Paraffin eingebettete Gewebe können untersucht werden, da die darin enthaltenen Antigene über Jahre hinaus stabil bleiben.
2. Der rote Farbkomplex des AEC-Reaktionsproduktes ist wasserunlöslich und beständig, er ermöglicht daher eine genaue Lokalisation des spezifischen Anti-Immunglobulins.
3. Nach üblicher Eindeckung der Gewebeschnitte mit Glycerin-Gelatine erhält man ein Dauerpräparat.
4. Die Reaktion ist mit einem handelsüblichen Mikroskop ohne Zusatzeinrichtung auszuwerten.
5. Die Methode besitzt eine hohe Spezifität, die Anfärbungen zeigen keine Diffusionstendenzen.
6. Andere Zellen der Umgebung, z.B. Lymphozyten, Granulozyten können differenziert werden.

2.3. Auswertungskriterien :

2.3.1. Allgemeine Morphologie :

Zur Beurteilung der Zusammensetzung des Rundzellinfiltrates wurde der Tumorrand und der Bereich der Lymphknotenmetastase anhand eines Hamatoxilin-Eosin gefärbten Gewebeschnittes (HE-Schnitt) untersucht.

Es wurde zwischen einer zellularen und der Stromareaktion unterschieden. Bei der zellulären Reaktion wurde zwischen Lymphzyten, Plasmazellen, Mastzellen, Granulozyten und Eosinophilen differenziert. Bei der Stromareaktion fiel das Augenmerk auf Fibrose und Nekrose.

Die Stärke der Entzündungszell-Infiltration und der Stromareaktion wurden in 4 Grade eingeteilt:

- : keine wahrnehmbare Infiltration/Stromareaktion
- 1 : schwache lympho-plasmazelluläre Infiltration/Stromareaktion
- 2 : mäßige bis deutliche lympho-plasmazelluläre Infiltration/Stromareaktion
- 3 : starke lympho-plasmazelluläre Infiltration/Stromareaktion

Bei der Begutachtung wurde auch der Differenzierungsgrad des Tumors bzw. der Metastase berücksichtigt, um die Abhängigkeit der Entzündungszell-Infiltration und der Stromareaktion von der histologischen Ausprägung des Karzinoms zu überprüfen.

2.3.2. Quantitative Auswertung :

Um eine Aussage über die quantitative Verteilung von Zellen der verschiedenen Immunglobulinklassen im Bereich der Entzündungszell-Infiltration machen zu können, wurde eine Auszählung der markierten Zellen vorgenommen.

Dazu wurden jeweils 10 Gesichtsfelder im Gebiet der stärksten Rundzellinfiltration mit dem Gitterokular bei einer Vergrößerung von 250 X ausgezählt. Nur eindeutig positive Anfärbungen von Zellen wurden bewertet. Daraus wurde der Mittelwert $\bar{x}$, die Standardabweichung s , sowie das Konfidenzintervall mit der statistischen Sicherheit $S = 95 \%$ und der Irrtumswahrscheinlichkeit $P = 5 \%$ bestimmt.

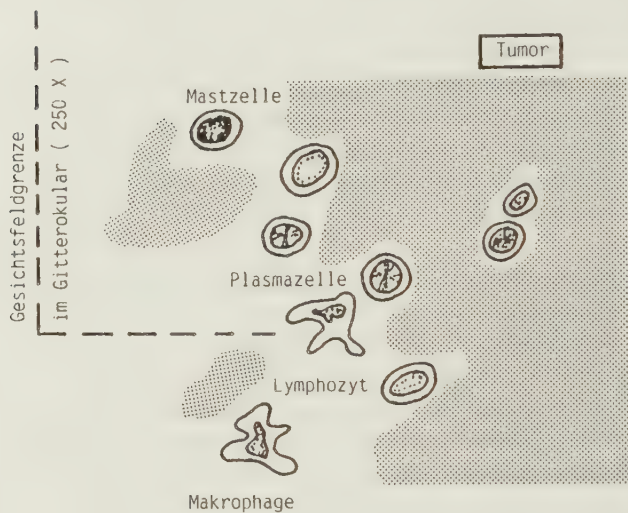
Bei der Betrachtung unter dem Mikroskop wurde nicht nur die Peripherie des Tumors bzw. seiner Metastase bewertet, sondern auch auf intratumoral gelegene Plasmazellen, insbesondere auf Zellnester, geachtet. Desweiteren wurden die Präparate auf spezifische Immunfärbung der Tumorzellen durchgeschaut, waren neoplastische Zellen positiv markiert, so wurde dies gesondert vermerkt. Auch wurde auf den genauen Ort der Anfärbung innerhalb der Zellen geachtet, besonders, ob das Zytoplasma oder die Zellmembran Lokalisation der Reaktion waren.

Die dabei gewonnenen Werte wurden tabellarisch aufgelistet und in Relation zu den unterschiedlichen Fragestellungen gesetzt. Die Ergebnisse wurden mit Hilfe eines statistischen Tests auf ihre Signifikanz überprüft und anschließend auf ein Histogramm übertragen. Wo dies möglich war, wurde die Vierfeldertafel zur Darstellung der Häufigkeitsverteilung verwendet.

Ziel der quantitativen Erhebung war das Herausarbeiten auffälliger Unterschiede in der Plasmazellfraktion im Bereich des Tumors und seiner Lymphknotenmetastase, aber auch gegenüber normalem, gesundem Gewebe.

Abb. 4 :

Vorgehen bei der quantitativen Auswertung mit schematischer Darstellung der peritumoralen Zellpopulation :



Intratumoral gelegene Plasmazelle (Zellnest)

Die durchbrochene Linie deutet eines der 10 ausgezählten Gesichtsfelder im Bereich der Entzündungszell-Infiltration an.

Die lympho-plasmazelluläre Infiltration wurde unter folgenden Gesichtspunkten untersucht :

1. Häufigkeitsverteilung der Immunglobulinfraktion und der Mastzellen in den unterschiedlichen histologischen Differenzierungsgraden (Grad I - III nach WHO, 1978) im Tumorgewebe und der regionären Lymphknotenmetastase.
2. Normalgewebe (von Patienten ohne Tumorleiden) wurde im Gehalt an antikörperhaltigen Zellen und Mastzellen mit dem Karzinom und der Metastase verglichen.
3. Der Gehalt an Plasmazellen und Mastzellen in verschiedenen Gewebearten (Mundboden, Zunge, Tonsillen, Lippe, Drüsen, harter Gaumen) wurde in gesundem Gewebe, Karzinom und Absiedlung untersucht. Im Vordergrund stand die Frage, ob sich Auffälligkeiten aus der andersartigen Morphologie ergeben würden.
4. Alle untersuchten Gewebearten, gesundes Mundhöhlenmaterial, Karzinom und Metastase wurden auf ihren Gehalt an Immunglobulinzellen und Mastzellen miteinander in Beziehung gesetzt. Auch hier interessierte die Häufigkeitsverteilung, eventuelle Unterschiede und Auffälligkeiten.
5. Ausgehend von der Überlegung, daß in höheren Lebensabschnitten die Immunantwort des Organismus insgesamt schwächer ausfallen kann, wurde eine Untersuchung im Hinblick auf das Lebensalter der Patienten und dem Gehalt von antikörperhaltigen Zellen und Mastzellen vorgenommen. Die vorhandene Alterstruktur im Patientenkollektiv ließ eine Unterteilung in vier Gruppen zu :
 - 30 - 50 Jahre
 - 51 - 60 Jahre
 - 61 - 70 Jahre
 - 71 - 80 Jahre
6. Auch war die räumliche Ausdehnung eines Tumor und eine mögliche veränderte Häufigkeit von Immunglobulinzellen und Mastzellen im Tumor und der Filia von Interesse. Dazu wurde eine Grenze bei 3 cm Ausdehnung des Primärherdes festgelegt. Grundlage für die Einteilung war die TNM-Klassifikation (UICC; 1979). Primärtumoren mit der histopathologischen Klassifizierung pT1 und pT2 bildeten die Gruppe I (Tumor kleiner als 3 cm im Durchmesser), Tumoren mit pT3 und pT4 wurden der Gruppe II (Tumor größer 3 cm) zugerechnet.

3. Ergebnisse :

3.1. Allgemeine Morphologie :

Zelluläre Reaktion :

- A. Lymphozyten : Im Rundzellinfiltrat fanden sich nur wenige bis mäßig viele Lymphozyten, lediglich 13 % der Primartumoren und 8,7 % der Metastasen zeigten eine starke Präsenz von Lymphozyten.
- B. Plasmazellen : Plasmazellen waren mäßig bis stark vorhanden, hier zeigten 47,8 % der Tumoren eine starke und 34,8 % eine mäßige Infiltration, bei den Metastasen waren es 43,5 % mit starker und gleichviel mit mäßiger Infiltration.
- C. Mastzellen : Hier konnte nur ein geringes bis mäßiges Vorhandensein von Mastzellen festgestellt werden (Tumor: 65,2 % geringe, 34,8 % mäßige Infiltration; Metastase: 87 % geringe, 13 % mäßige Infiltration).
- D. Granulozyten : Über ein Drittel (34,8 %) der Fälle bei Tumor und Filia wiesen gar keine Granulozyten auf, 43,5 % bzw. 47,8 % nur wenige, lediglich bei 21,7 % der Tumoren und 8,7 % der Metastasen fanden sich mäßig viele Granulozyten.
- E. Eosinophile : Bei 34,8 % der Tumoren und 73,9 % der Metastasen waren keine eosinophilen Zellen zu beobachten, 52,2 % (Tumor) und 26,1 % (Filia) ließen eine geringe eosinophile Zellinfiltration erkennen.

Stromareaktion :

- A. Fibrose : Beim Primartumor konnte in allen Fällen eine geringe bis mäßige Fibrosierung festgestellt werden, bei der Metastase zeigten 39,1 % keine, 21,7 % geringe und sogar 4,3 % eine starke Fibrose.
- B. Nekrose : Eine Nekrotisierung wurde mit geringem Ausmaß bei 34,8 % der Tumoren und bei 47,8 % der Lymphknotenmetastasen gefunden. 43,5 % der Primärgeschwulste und 34,8 % der Absiedlungen waren ganz ohne Nekrose. Demgegenüber zeigten 8,7 % der Metastasen eine starke Nekrosebildung.

Fall-Nr.	D.-Grad	Zelluläre Reaktion				Stromareaktion		
		Lymphozyten	Plasmazellen	Mastzellen	Granulozyten	Eosinophile	Fibrose	Nekrose
1	I / I	3 / 3	2 / 3	2 / 1	1 / -	1 / 1	1 / 1	- / 1
2	II / II	1 / 2	3 / 3	1 / 1	1 / 1	1 / -	2 / 2	2 / -
3	I / I	1 / 2	1 / 3	2 / 2	- / 3	- / -	1 / 1	- / 3
4	III / III	1 / 2	3 / 2	2 / 1	- / 1	- / -	- / -	- / 1
5	II / II	1 / 2	3 / 3	1 / 1	1 / 1	1 / 1	- / -	1 / 1
6	III / III	1 / 1	2 / 2	1 / 2	1 / 1	- / 1	3 / 2	1 / 1
7	III / III	1 / 1	3 / 2	1 / 1	2 / -	- / -	3 / 1	2 / -
8	II / II	2 / 2	1 / 2	2 / 1	2 / 1	3 / 1	2 / 1	- / 1
9	II / II	1 / 1	3 / 1	1 / 1	- / 2	1 / -	2 / 2	1 / 3
10	I / II	1 / 1	2 / 2	1 / 1	1 / -	1 / -	3 / -	- / -
11	II / II	1 / 1	3 / 3	2 / 2	2 / -	1 / -	1 / -	2 / -
12	I / I	2 / 2	3 / 3	2 / 1	- / 1	1 / -	2 / -	- / 1
13	I / I	3 / 2	3 / 2	2 / 1	1 / 1	1 / -	1 / 2	1 / 1
14	II / II	2 / 2	2 / 2	1 / 1	- / -	- / -	1 / -	- / -
15	II / I	2 / 2	2 / 3	1 / 1	2 / 2	- / -	- / -	2 / 2
16	III / III	1 / 1	3 / 3	2 / 1	- / 3	1 / 1	2 / 2	- / 2
17	I / I	3 / 2	2 / 2	1 / 1	- / 1	1 / -	2 / 1	- / 1
18	II / III	1 / 1	1 / 3	1 / 1	1 / 1	- / -	1 / 2	1 / 1
19	III / II	2 / 2	3 / 3	1 / 1	- / -	1 / -	1 / -	- / -
20	I / I	2 / 2	2 / 2	1 / 1	2 / 1	1 / 1	2 / 2	2 / 1
21	II / III	1 / 1	1 / 2	1 / 1	1 / -	3 / -	3 / 3	1 / -
22	II / III	1 / 2	3 / 3	1 / 1	1 / 1	- / -	2 / 2	1 / 1
23	II / II	2 / 3	2 / 1	1 / 1	1 / -	2 / -	2 / -	1 / -

- : keine wahrnehmbare, 1 : schwache, 2 : mäßige, 3 : starke Infiltration/Stromareaktion; der erste Werte bezeichnet die Infiltration im Tumor, der zweite Werte bezieht sich auf die Metastase.

3.2. Lokalisation und Färbemuster der Immunglobulin-haltigen Zellen :

3.2.1. Lokalisation der immunhistochemisch markierten Zellen :

Im Tumorbereich befinden sich die Immunglobulin-haltigen Zellen vorwiegend subepithelial, am Übergang vom Epithel zum Tumor, aber auch entlang von Bindegewebszügen zwischen Karzinomzellen und sie umgeben die Neoplasie zum Teil ringartig. Auch sind vereinzelt Nester von Immunglobulinzellen im Tumorgewebe zu beobachten. Es finden sich oft dichte Infiltrationen in der unmittelbaren Umgebung von Tumorzapfen oder Tumorzellnestern.

Bei der regionären Lymphknotenmetastase zeigt sich der peritumoral gelegene, ringartige Wall Immunglobulin-haltiger Zellen sehr deutlich, wobei die markierten Zellen im Randsinus und in direkter Nachbarschaft zu den Karzinomzellen vermehrt zu finden sind. Wie beim Primärherd liegen einzelne Immunglobulinzellen infiltrierend zwischen den Karzinominseln oder bilden im neoplastischen Gewebe Nester. Es sind aber auch ganz vereinzelt disseminierte Reaktionen von Tumorzellen vorhanden. In insgesamt 30,4 % der Fälle sind Tumorzellen im Karzinombereich und der Metastasenregion vereinzelt angefärbt. Die Lokalisation der Immunglobulinzellen ist in den nachfolgenden Abbildungen veranschaulicht.

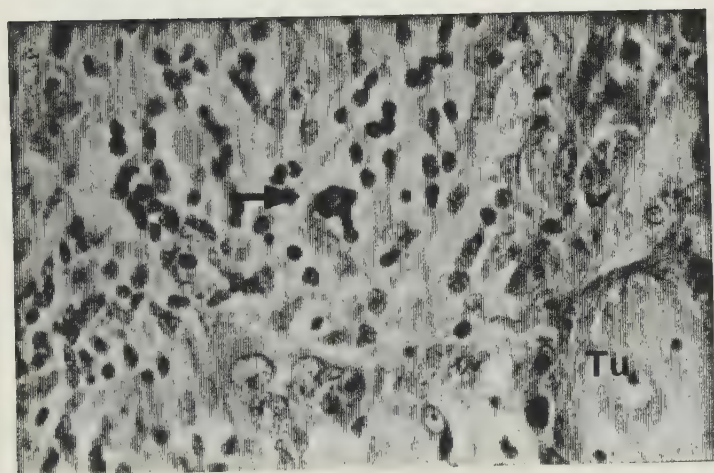


Abb. 5 : Darstellung der Gewebsmastzellen mit Hilfe der Toluidin-Blau-Färbung. Peritumoral gelegene Gewebsmastzelle bei einem verhornten Plattenepithel-Karzinom des Zungenrandes (metachromatische Färbung mit Toluidin-Blau). Fall-Nr. 1; Tumor, 79-jährige Frau; 400 X

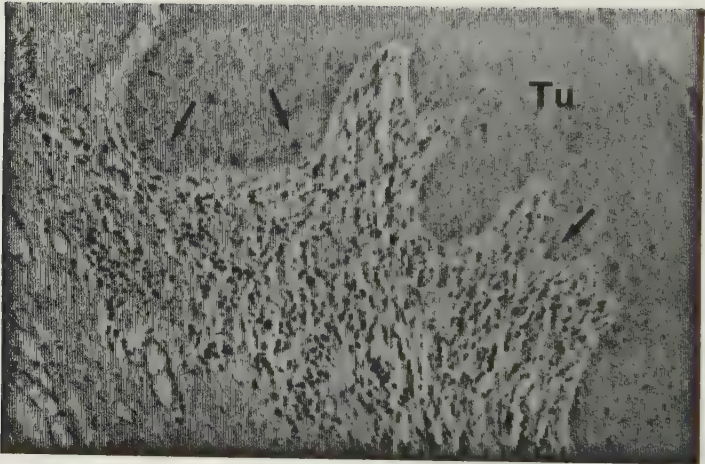


Abb. 6 : Darstellung der plasmazellulären Infiltration mit der indirekten, enzymkonjugierten Immunperoxidase-methode :

Starke, subepithelial gelegene Infiltration mit Ig G-Zellen, vom Bindegewebe ausgehend, mit deutlicher Tendenz zur Einwanderung der Ig G-Zellen.

(Im Original rot, Gegenfärbung mit Hämalaun).

Unterlippe, verhorntes, oberflächlich infiltrierendes Plattenepithel-Karzinom

Fall-Nr. 14, Primärtumor, 55-jähriger Mann, 160 X



Abb. 7 : Starke Ig G-Infiltration um einen Tumorzapfen herum, mit einem intratumoral gelegenen Ig G-Zellnest (im Original rot, Gegenfärbung mit Hämalaun). Hochdifferenziertes, verhornendes, infiltrierendes Plattenepithel-Karzinom der Zunge.

Fall-Nr. 12, Primärtumor, 73-jährige Frau, 100 X

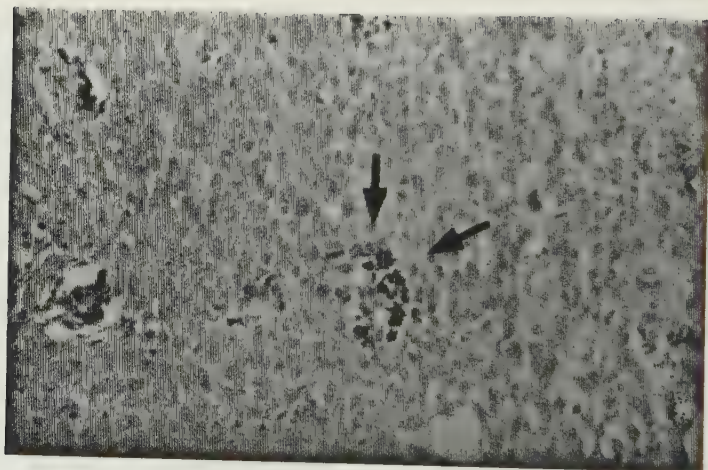


Abb. 8 : Ig G-Zellen bilden intratumoral ein Zellnest (im Original rot, Gegenfärbung mit Hämalaun). Hochdifferenziertes, verhornendes, infiltrierendes Plattenepithel-Karzinom der Zunge.

Fall-Nr. 12, Primärtumor, 73-jährige Frau, 400 X

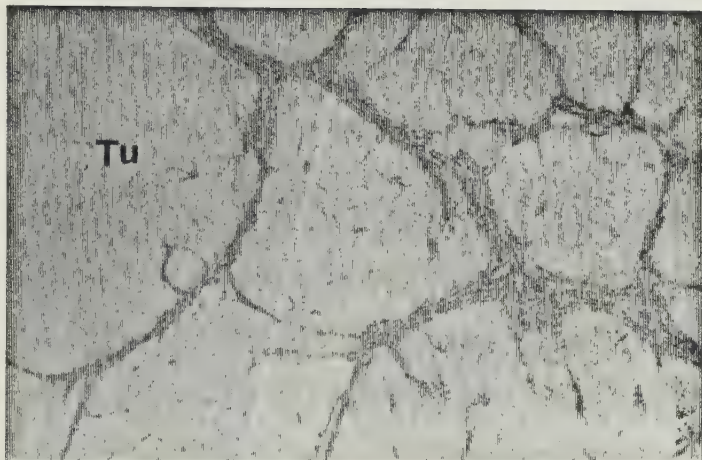


Abb. 9 : Starke peritumorale Ig G-Zellinfiltration, den Bindegewebszügen folgend, mit der Tendenz in die Tumormasse einzuwandern. (Im Original rot, Gegenfärbung mit Hämalan). Solides, undifferenziertes Plattenepithel-Karzinom der Tonsille.

Fall-Nr. 4, Primärtumor, 75-jähriger Mann, 100 X

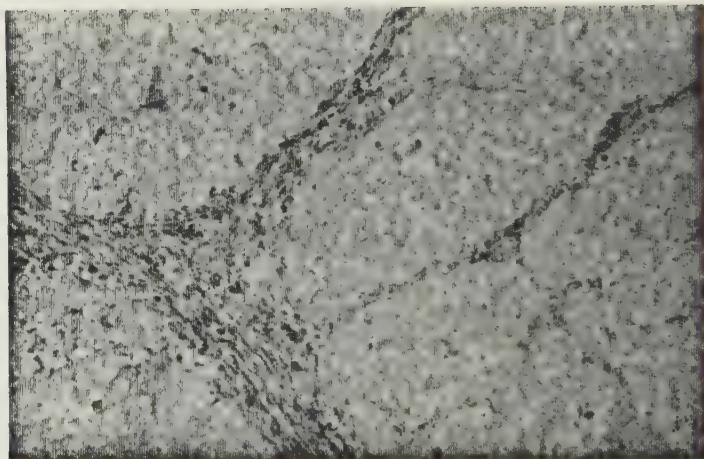


Abb. 10 : Starke peritumorale Infiltration mit Ig G-Zellen, in Bindegewebs-
zügen gelegen, disseminierte Einzelreaktionen im Tumorgewebe (im Original rot
Gegenfärbung mit Hämalan). Solides, undifferenziertes Plattenepithel-Kar-
zinom der Tonsille.

Fall-Nr. 4, Primärtumor, 75-jähriger Mann, 160 X

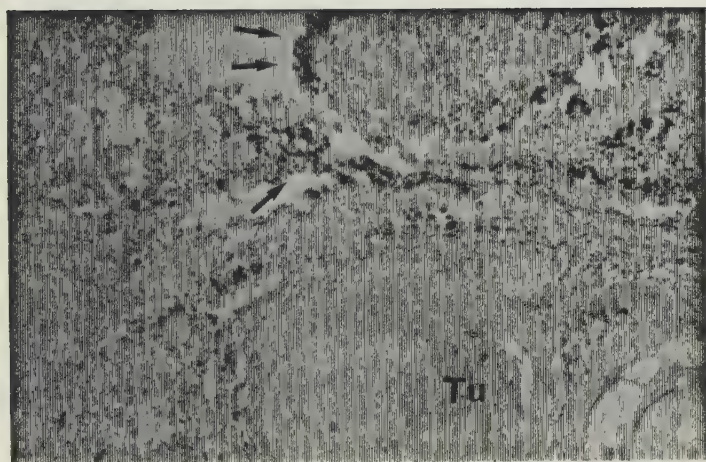


Abb. 12 : Starke Ig M-Infiltration in einer regionären Lymphknotenmetastase, deutlich zu erkennen ist die ringartige Anordnung der Ig M-Zellen um Karzinomzellnester. (Im Original rot, Gegenfärbung mit Hämalalaun).

Zunge, gering verhorntes, infiltrierendes Plattenepithel-Karzinom.

Fall-Nr. 9, regionäre Lymphknotenmetastase, 68-jähriger Mann, 100 X



Abb. 11 : Mit Antikörpern gegen Ig M markierte Tumorzellen (TuZ) eines mäßig differenzierten, verhornten, infiltrierenden und ulcerierten Plattenepithel-Karzinoms des Mundbodens. (Im Original rot, Gegenfärbung mit Hämalaun).

Fall-Nr. 10, Primärtumor, 49-jähriger Mann, 400 X

3.2.2. Art und Form der immunhistochemischen Reaktionsprodukte :

Das Färbemuster der Zellen, die mit der indirekten, enzymkonjugierten Immunperoxidase-methode markiert wurden, weist drei Hauptformen auf.

Zumeist liegt der ACE-Komplex um die ganze Zelle herum, das Cytoplasma bleibt dabei scheinbar frei, es erscheint im Mikroskop heller als die angefärbte Umgebung. Die Zellmembran ist erhalten und durch die Gegenfärbung mit Hämalan sichtbar. Oft ist auch die " Radspeichenstruktur " der Plasmazellen noch zu erkennen.

Auch kann der ACE-Farbstoff nur an einem Pol der Zelle zu finden sein, dabei ist wiederum die Zellmembran erhalten und das Cytoplasma ohne spezifische Anfärbung. Diese Form des Färbemusters ist häufig in unmittelbarer Nähe zu Tumorzellen zu beobachten.

Bei der dritten Art liegt das Reaktionsprodukt spindelförmig um die Zelle, dies ist vor allem in Bindegewebszügen und in der Nähe von Hornperlen des Karzinoms der Fall. Die Zellmembran ist erhalten und durch die Gegenfärbung sichtbar gemacht.

Beispiele für diese Färbemuster sind auf den folgenden Abbildungen wiedergegeben.



Abb. 13 : Einzelne Ig E-Zelle, peritumoral gelegen, bei erhaltener Zellmembran liegt die spezifische Anfärbung wolkenförmig um die gesamte Zelle herum. Deutlich zu erkennen ist das etwas hellere Cytoplasma. (Im Original rot, Gegenfärbung mit Hämalalaun).

Gering verhorntes, infiltrierendes Plattenepithel-Karzinom der Zunge.

Fall-Nr. 9, Primärtumor, 68-jähriger Mann, 1000 X Oel

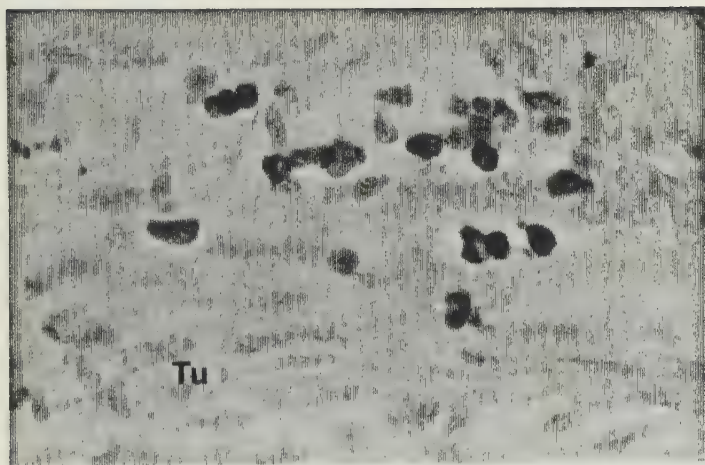


Abb. 14 : Ig M-Plasmazellen, in unmittelbarer Nachbarschaft zu Karzinomzellen gelegen, die spezifische Anfärbung liegt zum Teil kappenförmig an einem Pol der Zellen. Die Plasmazellstruktur ist als " Radspeicherform " gut sichtbar. (Im Original rot, Gegenfärbung mit Hämalalaun).

Verhorntes, oberflächlich infiltrierendes Plattenepithel-Karzinom des Mundbodens.

Fall-Nr. 2, Primärtumor, 30-jähriger Mann, 400 X

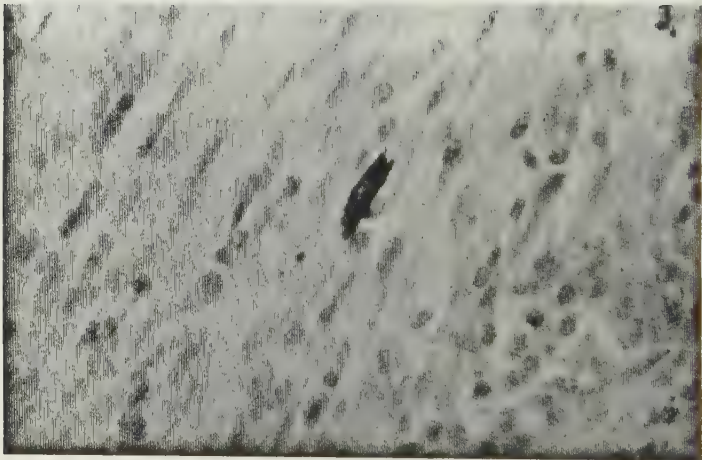


Abb. 15 : Ig D-Zelle, in einem Bindegewebszug peritumoral gelegen, bei erhaltener Zellmembran ist die Spindelform der spezifischen ACE-Anfärbung deutlich zu erkennen. (Im Original rot, Gegenfärbung mit Hämalaun). Lymphknotenmetastase eines verhornten Plattenepithel-Karzinoms der Zunge. Fall-Nr. 1, regionäre Lymphknotenmetastase, 79-jährige Frau, 400 X

3.3. Plasmazelluläre Verteilung :

Die bei der Untersuchung gefundene quantitative Verteilung von Zellen der einzelnen Immunglobulinklassen und der Mastzellen im Bereich der Rundzellinfiltration soll unter folgenden Gesichtspunkten zur Darstellung kommen :

- In ihrer Beziehung zu den verschiedenen Differenzierungsgraden nach WHO
- In ihrer Beziehung zur Gewebeart des Primärtumors
- In ihrer Beziehung zur Altersverteilung der Patienten
- In ihrer Beziehung zum TNM-Status des Karzinoms bei der Operation

3.3.1. Vergleich des Immunglobulinzell-Gehaltes in Mundhöhlenkarzinomen verschiedener Differenzierungsgrade (WHO) und ihrer regionären Lymphknotenmetastasen :

Hierbei soll der Frage nachgegangen werden, wie sich die antikörperhaltigen Zellen und Mastzellen im Hinblick auf die histologische Ausdifferenzierung eines malignen Gewebes verhalten. Von besonderem Interesse war das Vorhandensein und die Verteilung von antikörperhaltigen Zellen und Mastzellen im Bereich des Primärtumors im Vergleich zu seiner regionären Lymphknotenmetastase.

Zugrundegelegt wurde die Einteilung in drei histologische Differenzierungsgrade, wie sie von der Weltgesundheitsorganisation (WHO, 1978) empfohlen wird :

- Grad I : hoch differenziertes Plattenepithelkarzinom
- Grad II : mäßig differenziertes Plattenepithelkarzinom
- Grad III : gering differenziertes Plattenepithelkarzinom

Tabelle 4 :

3.3.1. Vergleich des Immunglobulinzell-Gehaltes in Mundhöhlenkarzinomen verschiedener Differenzierungsgrade (WHO) und ihren regionären Lymphknotenmetastasen :

Zelltyp	Differenzierungsgrad			Total
	I	II	III	
Ig A :				
Tumor	49,24	31,45	58,08	138,77
Metastase	49,14	46,94	55,97	152,05
Total	98,38	78,39	114,05	290,82
Ig D :				
Tumor	-	10,45	7,64	18,09
Metastase	1,27	8,42	5,98	15,67
Total	1,27	18,87	13,62	33,76
Ig E :				
Tumor	2,98	6,85	7,54	17,37
Metastase	5,17	8,38	9,27	22,82
Total	8,15	15,23	16,81	40,19
Ig G :				
Tumor	83,67	70,43	95,12	249,22
Metastase	70,35	71,71	112,95	255,01
Total	154,02	142,14	208,07	504,23
Ig M :				
Tumor	43,73	26,85	43,93	114,51
Metastase	22,78	20,05	32,53	75,36
Total	66,51	46,90	76,46	189,87

3.3.1. Fortsetzung :

Zelltyp	Differenzierungsgrad			Total
	I	II	III	
Lambda				
Tumor	6,24	3,63	2,73	12,60
Metastase	3,90	4,00	4,22	12,12
Total	10,14	7,63	6,95	24,72
Mastzellen				
Tumor	1,97	1,24	1,90	5,11
Metastase	1,35	0,97	0,78	3,10
Total	3,32	2,21	2,68	8,21

Kappaketten waren weder beim Tumor noch der Metastase nachweisbar.

Tabelle 5 :

Verteilung der histologischen Differenzierungsgrade :

n = 23	Differenzierungsgrad			Total
	I	II	III	
Tumor	7	11	5	23
Metastase	7	9	7	23
Total	14	20	12	46

3.3.1.1. Primärtumor :

Im Hinblick auf den Primärtumor ergibt sich ein deutlich höherer Wert bei Zellen mit den Immunglobulinen Ig A, Ig G und Ig M des Differenzierungsgrades I gegenüber Grad II, der histologische Grad III dagegen zeigt bei diesen Immunglobulinen die höchsten Werte. Die restlichen Immunglobulin-klassen verhalten sich unterschiedlich. Ig D-haltige Zellen weisen bei Grad I keine Reaktion auf, Grad II besitzt einen höheren Wert als Grad III. Bei Zellen, welche Ig E enthalten, ist ein langsames Ansteigen von Grad I bis III zu verzeichnen. Kappazellen reagieren bei keiner der drei Differenzierungen, Zellen mit Lambdaketten zeigen ein langsames, stufenweises Absinken, mit dem höchsten Wert in Grad I und dem tiefsten in Grad III. Die Mastzellen sind am häufigsten bei Grad I zu finden, deutlich weniger bei Grad II und steigen in Grad III wieder etwas an.

3.3.1.2. Metastase :

Im Metastasengewebe zeigen nur Zellen, die Ig A und Ig M enthalten, das gleiche Verhalten wie beim Primärtumor. Es ist durch ein Absinken der Häufigkeit beim histologischen Differenzierungsgrad II gekennzeichnet, in Grad I und III werden wiederum höhere Werte erreicht.

Ig M-Zellen sind, absolut gesehen, geringer vertreten als beim Primärherd. Zellen mit Ig G zeigen im Metastasenbereich einen Anstieg in der Häufigkeitsverteilung von Grad I über II zu Grad III, bei welchem ein wesentlich höherer Wert erreicht wird.

Ig D-Zellen weisen den gleichen Verlauf wie beim Primärtumor auf, in Grad I kaum vorhanden, sind sie in Grad II deutlich vermehrt und in Grad III wiederum vermindert.

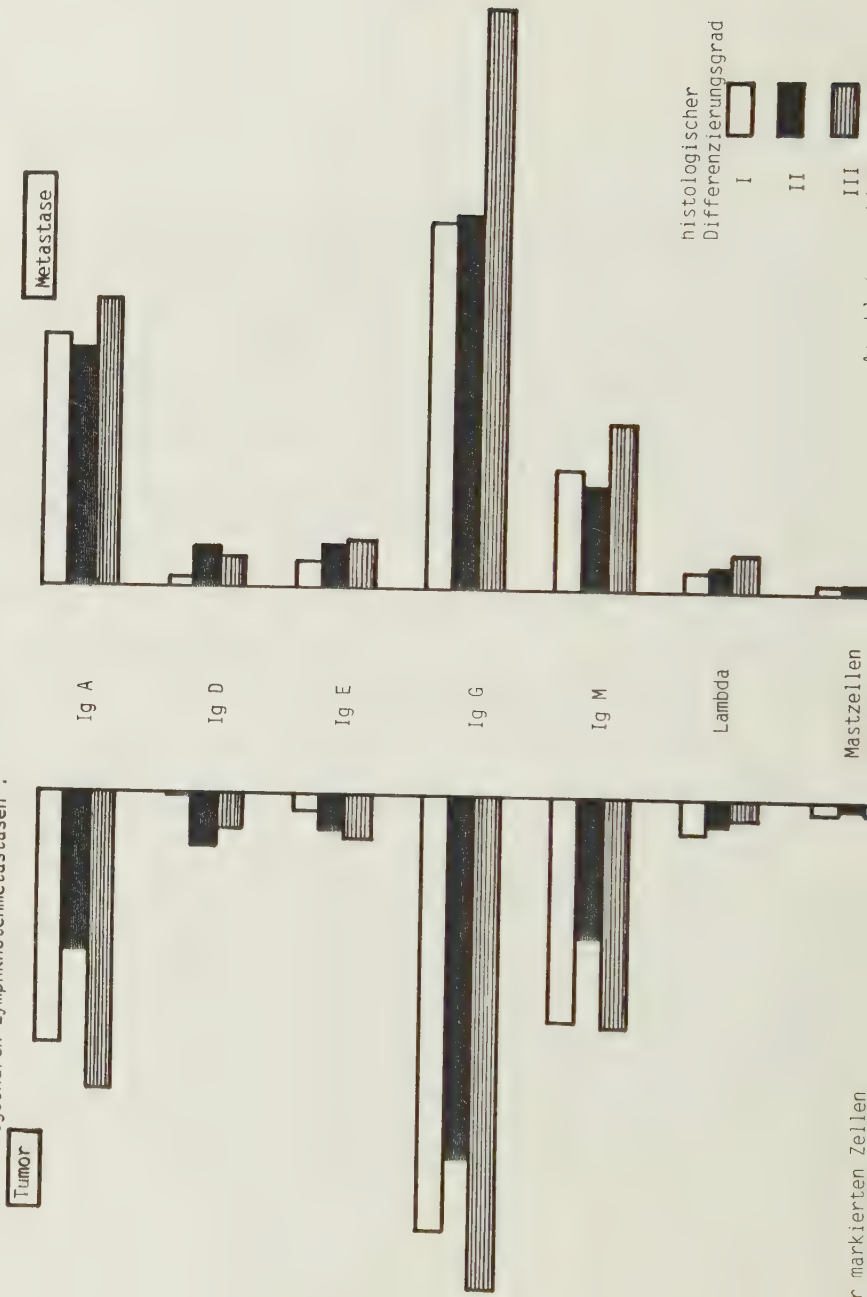
Die Häufigkeit von Zellen mit Ig E und Lambdaketten steigt von Grad I bis III stufenweise an.

Kappketten waren im Bereich der regionären Lymphknotenmetastase nicht nachweisbar. Mastzellen sind kaum bis gar nicht vertreten.

Tabelle 6 :
Prozentualer Anteil der histologischen Differenzierungsgrade an der Fallzahl :

n = 23	Differenzierungsgrad			Total
	I	II	III	
Tumor	30,4%	47,9%	21,7%	100%
Metastase	30,4%	39,2%	30,4%	100%
Total	60,8%	87,1%	52,1%	200%

Abb. 16 : Darstellung des Immunglobulinzell-Gehaltes in Mundhöhlenkarzinomen verschiedener Differenzierungsgrade (WHO) und ihren regionären Lymphknotenmetastasen :



3.3.2. Vergleich des Immunglobulinzell-Gehaltes in gesundem Mundhöhlengewebe, Karzinom und regionärer Lymphknotenmetastase :

Hier sollte die Häufigkeitsverteilung antikörperhaltiger Zellen und Mastzellen in gesundem Mundhöhlengewebe mit der in Karzinomen und regionären Lymphknotenmetastasen verglichen werden.

Als Referenzgewebe diente Sektionsmaterial, das bei Patienten gewonnen wurde, die nicht an einem Karzinom erkrankt waren. Das Gewebe war makroskopisch und mikroskopisch als gesund eingestuft worden. Folgende Gebiete wurden für die Entnahme gewählt : Cervicale Lymphknoten, Mundboden, Lippe, Zunge, Tonsillen, Wangenschleimhaut, sowie der harte und weiche Gaumen. Proben gleicher Herkunft wurden miteinander in Beziehung gesetzt, so z.B. normale Zunge mit einem Zungenkarzinom, gesunde Tonsille mit einem Tonsillenkarzinom oder Lippe mit einem Lippenkarzinom. Dadurch sollte der unterschiedlichen Morphologie der Gewebe entsprochen werden.

Tabelle 7 :

Anteil der verschiedenen Lokalisationen des Primärtumors an der Fallzahl :

n = 23	Fälle	%
Mundboden	9	39,1 %
Zunge	6	26,1 %
Tonsille	4	17,4 %
Lippe	2	8,7 %
Drüse, Gaumen	2	8,7 %
Total	23	100,0 %

Tabelle 8 :

3.3.2. Vergleich des Immunglobulinzell-Gehaltes in gesundem Mundhöhlen-
gewebe, Karzinom und regionärer Lymphknotenmetastase :

Gewebeart	Normal	Karzinom	Metastase
Mundboden			
Ig A	33,35 $\pm$ 1,06	50,72 $\pm$ 20,64	56,51 $\pm$ 17,29
Ig D	2,10 $\pm$ 0,42	13,00 $\pm$ 4,09	9,40 $\pm$ 2,28
Ig E	- -	7,44 $\pm$ 2,52	10,64 $\pm$ 4,17
Ig G	26,40 $\pm$ 4,94	80,86 $\pm$ 31,40	93,98 $\pm$ 24,26
Ig M	4,85 $\pm$ 1,62	33,10 $\pm$ 11,65	20,57 $\pm$ 4,65
Kappa	2,30 $\pm$ 0,28	- -	- -
Lambda	29,45 $\pm$ 5,02	4,00 $\pm$ 1,30	4,26 $\pm$ 1,36
Mastzellen	1,70 $\pm$ 0,19	1,63 $\pm$ 0,73	1,30 $\pm$ 0,55
Zunge			
Ig A	2,15 $\pm$ 1,34	62,10 $\pm$ 15,60	53,56 $\pm$ 16,50
Ig D	- -	10,80 $\pm$ 5,80	8,90 $\pm$ 0
Ig E	- -	4,00 $\pm$ 1,04	9,41 $\pm$ 3,16
Ig G	27,05 $\pm$ 6,05	82,05 $\pm$ 23,98	67,33 $\pm$ 16,00
Ig M	3,95 $\pm$ 0,77	29,65 $\pm$ 2,47	20,78 $\pm$ 3,61
Kappa	1,20 $\pm$ 0,69	- -	- -
Lambda	13,05 $\pm$ 6,15	5,30 $\pm$ 1,95	5,10 $\pm$ 1,90
Mastzellen	1,70 $\pm$ 0,72	1,80 $\pm$ 0,74	1,28 $\pm$ 0,83
Tonsille			
Ig A	92,70 $\pm$ 17,53	16,27 $\pm$ 4,93	38,90 $\pm$ 7,85
Ig D	9,55 $\pm$ 3,04	9,30 $\pm$ 1,65	8,50 $\pm$ 1,20
Ig E	- -	5,77 $\pm$ 1,77	5,97 $\pm$ 1,04
Ig G	67,45 $\pm$ 29,97	97,02 $\pm$ 19,00	81,87 $\pm$ 13,31
Ig M	32,40 $\pm$ 7,77	40,10 $\pm$ 5,73	29,72 $\pm$ 8,33
Kappa	6,70 $\pm$ 3,09	- -	- -
Lambda	15,65 $\pm$ 2,19	1,50 $\pm$ 0,52	2,43 $\pm$ 0,65
Mastzellen	5,50 $\pm$ 1,55	1,62 $\pm$ 0,88	0,75 $\pm$ 0,20

3.3.2. Fortsetzung :

Gewebeart	Normal		Karzinom	Metastase
Lippe				
Ig A	-	-	43,10 $\pm$ 22,54	60,10 $\pm$ 29,66
Ig D	-	-	-	-
Ig E	-	-	9,95 $\pm$ 4,81	7,25 $\pm$ 1,62
Ig G	111,00 $\pm$ 19,45		64,35 $\pm$ 31,14	56,80 $\pm$ 20,77
Ig M	-	-	21,30 $\pm$ 3,27	16,95 $\pm$ 1,88
Kappa	-	-	-	-
Lambda	2,90 $\pm$ 0,73		11,60 $\pm$ 2,50	3,30 $\pm$ 0,94
Mastzellen	1,30 $\pm$ 0,82		1,45 $\pm$ 0,07	0,95 $\pm$ 0,35
Drüse, Gaumen				
Ig A	-	-	0,60 $\pm$ 0,04	84,70 $\pm$ 18,79
Ig D	-	-	-	14,30 $\pm$ 3,18
Ig E	2,70 $\pm$ 1,15		1,20 $\pm$ 0,63	7,90 $\pm$ 2,64
Ig G	45,40 $\pm$ 10,45		36,70 $\pm$ 7,74	85,40 $\pm$ 18,10
Ig M	72,10 $\pm$ 11,52		-	39,50 $\pm$ 6,81
Kappa	-	-	-	-
Lambda	-	-	1,30 $\pm$ 0,48	10,30 $\pm$ 2,02
Mastzellen	-	-	1,05 $\pm$ 0,33	0,95 $\pm$ 0,21

3.3.2.1. Mundboden :

Hier sind Zellen mit Ig A und Ig G im Primärtumor und der Metastase deutlich gegenüber gesundem Mundbodengewebe vermehrt. Bei Ig D- und Ig M-Zellen ist die Reaktion im Randbereich des Tumors besonders ausgeprägt, im Metastasenbereich ist sie abgeschwächt und in normalem Gewebe gering vorhanden. Ig E-Zellen sind im normalen Mundboden nicht zu finden, tauchen aber beim Primärtumor auf und sind in der Absiedlung vermehrt. Zellen mit Ig M sind im gesundem Gewebe zahlreich vorzufinden, im Bereich des Primärherdes am meisten und nicht ganz so stark im Gebiet der Metastase.

Kappazellen zeigen nur in Normalgewebe eine Reaktion, weder Tumor noch Metastase weisen Aktivitäten auf. Zellen mit Lambdaketten sind im Gesunden stark vorhanden, Primärtumor und Absiedlung dagegen zeigen deutlich geringere Werte. Die Mastzellen sind in allen drei Gruppen etwa gleich stark vertreten.

3.3.2.2. Zunge :

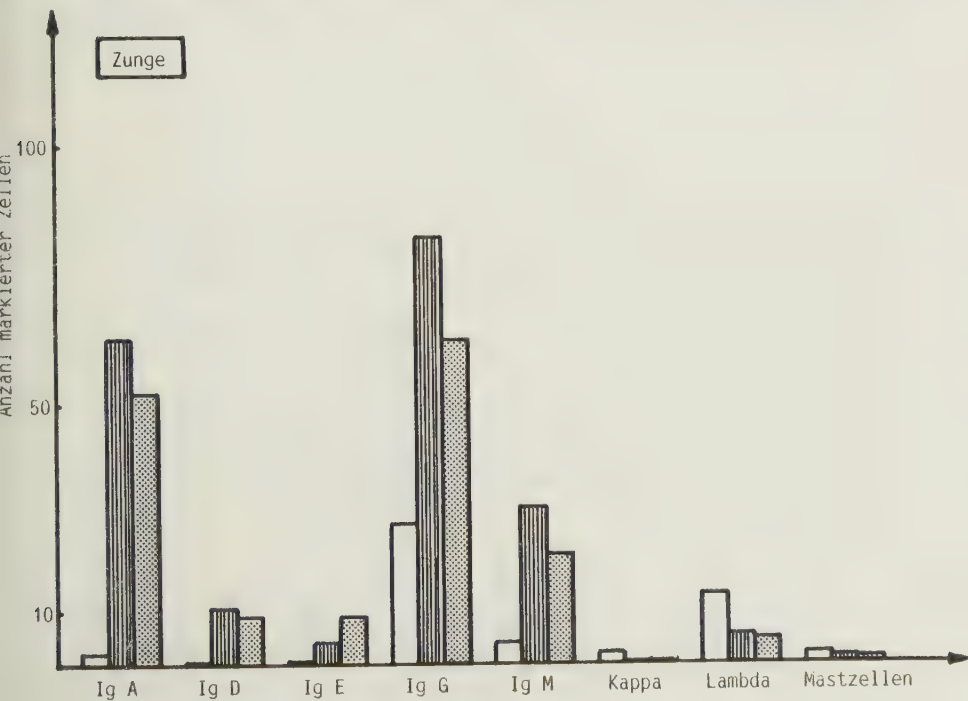
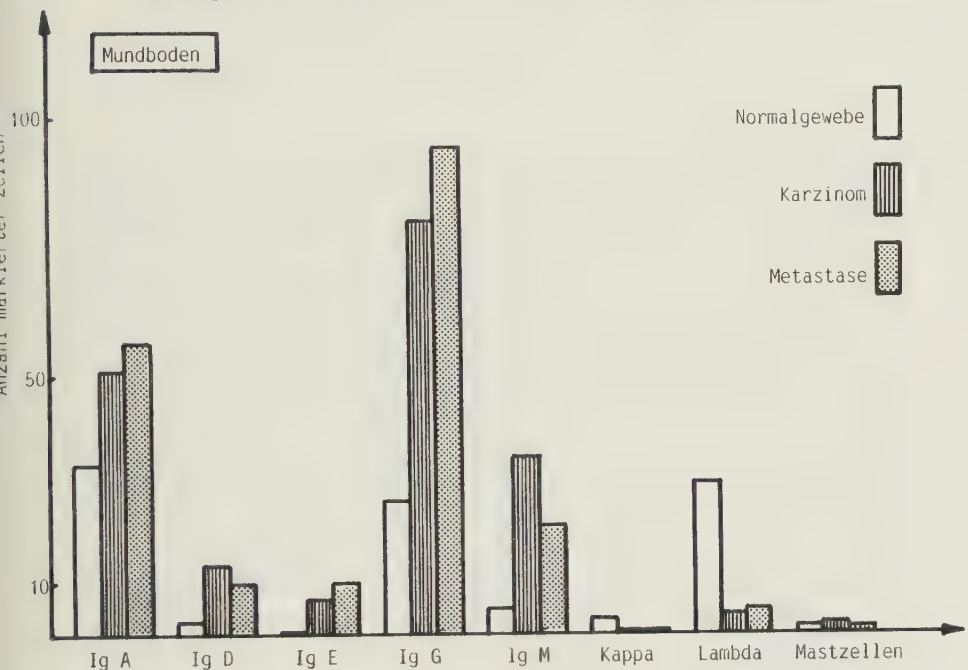
Bei Zellen der Immunglobulinklassen Ig A, Ig D, Ig G und Ig M lassen sich im Bereich des Primärtumors die meisten Aktivitäten finden, im Normalgewebe sind sie kaum bis gar nicht nachweisbar und die Metastasenumgebung weist gegenüber dem Primärherd wesentlich geringere Reaktionen auf.

Ig E-Zellen sind im normalen Zungengewebe nicht gefunden worden, beim Tumor mäßig, jedoch vermehrt bei der Metastase.

Zellen, welche Kappaketten enthielten, waren nur im gesunden Vergleichsgewebe vorhanden. Lambdazellen zeigen im Normalen die höchsten Werte, bei Primärtumor und Metastase ist ein Absinken der Reaktionshäufigkeit zu verzeichnen.

Bei den Mastzellen sieht man ein stufenweises, nur geringes Abnehmen vom normal beschaffenen Gewebe über den Bereich des Primärtumors zur Absiedlung.

Abb. 17 : Der Immunglobulinzell-Gehalt in gesundem Mundhöhlengewebe, Karzinom und regionärer Lymphknotenmetastase nach der Gewebeart :



3.3.2.3. Tonsille :

Das Tonsillengewebe zeigt bei Zellen mit Ig A sehr hohe Werte im Normalen, beim Tumor einen sehr starken Abfall und im Metastasenbereich einen mäßigen Wiederanstieg der Reaktionshäufigkeit auf etwa die Hälfte der im Normalen gefundenen Werte.

Die Ig D-haltigen Zellen sind in gesunden Tonsillen reichlich vorhanden, ihre Anwesenheit nimmt im Tumorgebiet etwas ab und nochmals in der Metastasenregion. Ig E-Zellen sind in normal beschaffenen Tonsillen nicht gefunden worden, dagegen vermehrt beim Tumor und noch ein wenig mehr bei der Metastase.

Zellen, welche Ig G beinhalten, besitzen bereits im Normalgewebe relativ hohe Werte, die im Tumor noch übertroffen werden, im Gebiet der Absiedlung liegen sie etwa in der Mitte zwischen Tumor- und Normalwert. Die Ig-Zellen zeigen, nur mit geringeren Zahlenwerten, den gleichen Verlauf.

Zellen mit Kappaketten treten nur im Gesunden in Erscheinung, Lambdakettenhaltige Zellen sind im Normalgewebe eindeutig mehr vorhanden als in Tumor und Metastase.

Bei den Mastzellen sinken die Werte in geringem Maße von Normal über Karzinom und Filia kontinuierlich ab.

3.3.2.4. Lippe :

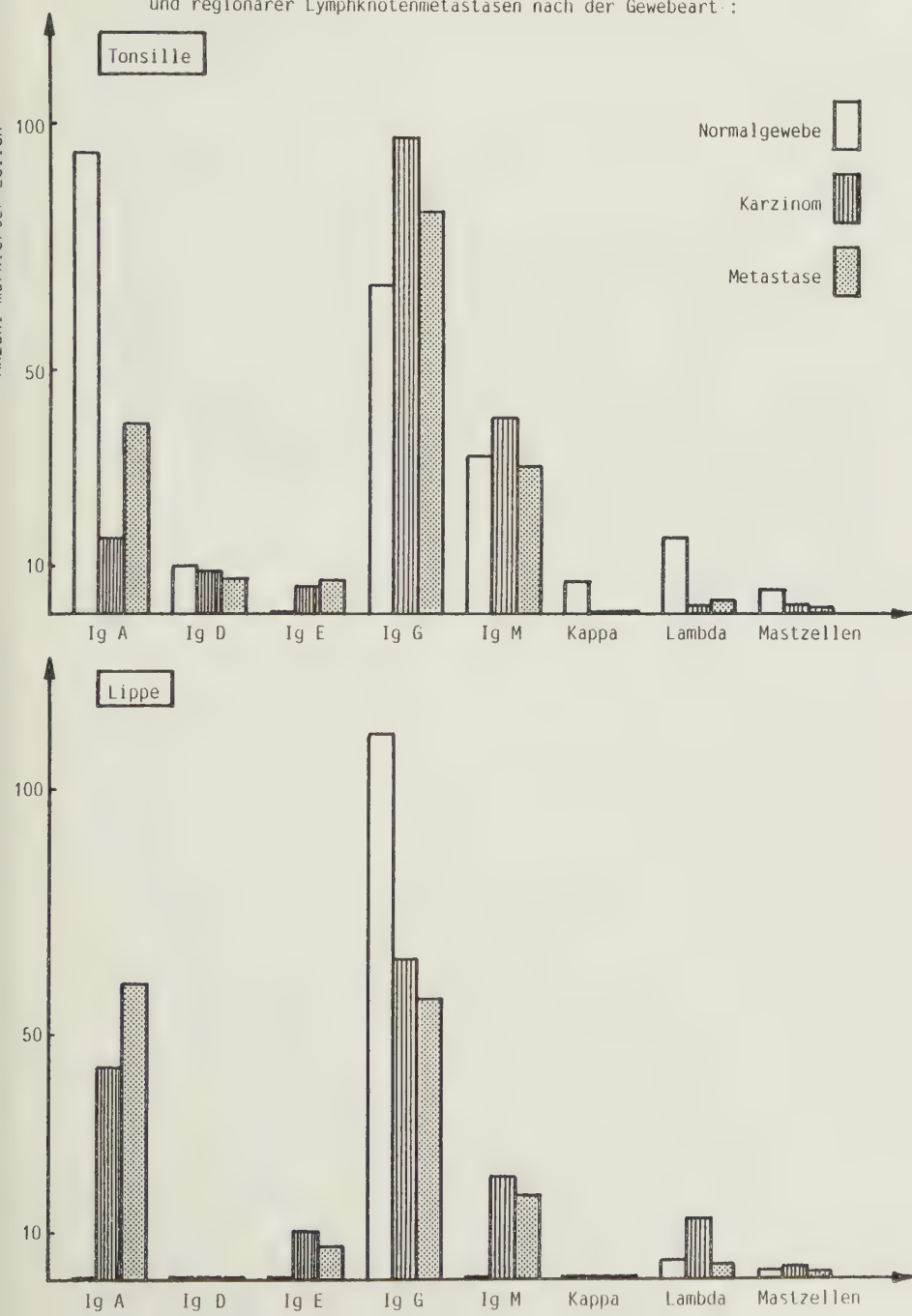
In normal beschaffenen Lippen finden sich weder Zellen vom Typ des Ig A, Ig D, Ig E noch Ig M. Im Bereich des Karzinoms dagegen sind Ig A-Zellen erheblich mehr vorhanden und um die Metastase herum sind sie nochmals vermehrt.

Zellen mit Ig D und Kappaketten zeigen keinerlei Reaktion.

Ig E- und Ig M-Zellen sind jeweils im Karzinomrand stärker auffindbar als in der Metastase.

Ig G-Zellen sind im Normalen besonders häufig, nur halb so oft beim Primärtumor und nochmals etwas geringer sind sie bei der Lymphknotenmetastase vorhanden. Mastzellen finden sich etwa gleichermaßen bei Normalgewebe und Tumor, weniger bei der Absiedlung.

Abb. 18 : Der Immunglobulinzell-Gehalt in gesundem Mundhöhlengewebe, Karzinom und regionärer Lymphknotenmetastasen nach der Gewebeart :



3.3.2.5. Drüse, harter Gaumen :

Betrachtet man das verbleibende Gewebe, so ergibt sich ein sehr inhomogenes Bild.

Es zeigt sich, daß Zellen mit Ig A, Ig D und Lambdaketten praktisch nur im Bereich der Lymphknotenmetastase vorhanden sind, wobei die ermittelten Werte für Ig A-Zellen enorme Höhe erreichen.

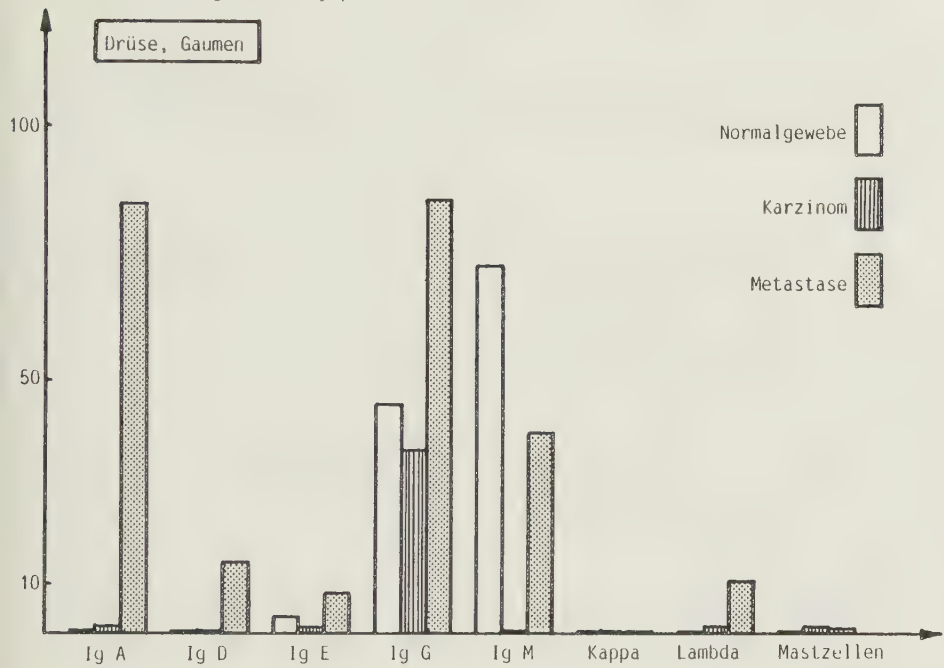
Zellen des Ig E-Typs sind im Gesunden mäßig vertreten, weniger im Tumorrand und deutlich vermehrt in der Tochtergeschwulst. Das Verhalten der Ig G-Zellhäufigkeit ist ähnlich, eine mittlere Anzahl bei normalem Gewebe, erniedrigte Werte beim Karzinom und ein stark erhöhter Anteil im Metastasenbereich.

Zellen mit Ig M weisen im Normalen die höchsten Werte auf, zeigen im Tumorgebiet keine Aktivität und erreichen in der Absiedlung nur etwa die Hälfte der im Normalen ermittelten Werte.

Zellen mit Kappaketten waren keine auffindbar.

Mastzellen treten nur beim Karzinom und Metastase in geringer Anzahl in Erscheinung.

Abb. 19 : Der Immunglobulinzell-Gehalt in gesundem Mundhöhlengewebe, Karzinom und regionärer Lymphknotenmetastase nach der Gewebeart :



3.3.3. Vergleich des Immunglobulinzell-Gehaltes aller Gewebearten in gesundem Mundhöhlengewebe, Karzinom und regionärer Lymphknotenmetastase :

Betrachtet man alle Gewebearten ohne Rücksicht auf ihre unterschiedliche Herkunft, so ergibt sich ein völlig anderes Verhältnis der Häufigkeitsverteilung der Immunglobulinfraktionen. Erklärt sich das unterschiedliche Bild bei den Zellen der einzelnen Immunglobulinklassen durch die andersartige Morphologie der Proben, so zeigen die Gesamtdurchschnittswerte der antiörperhaltigen Zellen mit einer gewissen Abstufung eine klare Tendenz auf.

Ig A-Zellen sind in normalem Gewebe in mäßiger Anzahl vorhanden, im Bereich des Tumors steigt ihre Häufigkeit um mehr als das Doppelte an und erhöht sich in der Metastasenregion nochmals. Absolut gesehen ist der Ig A-Zelltyp die zweitstärkste Immunglobulinklasse.

Zellen mit Ig D zeigen in ihrer Verteilung nur kleine Unterschiede, der Wert im Normalgewebe liegt nur wenig unterhalb der Auszahlungen, die im Karzinom und der Metastase ermittelt wurden. Ig E-Zellen scheinen im Gesunden so gut wie nicht vorzukommen, dagegen aber vermehrt im Karzinom und nochmals verstärkt bei der Filia. Zellen mit Ig G sind die, absolut betrachtet, am meisten vertretenen antikörperhaltigen Zellen. Die bei der Auszählung ermittelten Werte erreichen bereits im Normalen den höchsten Stand aller untersuchten gesunden Proben. Im Tumorgebiet schnellte der gefundene Index auf das Doppelte, um dann im Bereich der Metastase das Zweieinhalbfache der Normalwerte zu betragen.

Ig M-Zellen sind im normalen Mundhöhlengewebe nur relativ selten zu finden, vermehrt jedoch bei Primärtumor und Absiedlung, so daß insgesamt gesehen, diese Zellen die drittstärkste Immunglobulinklasse bilden.

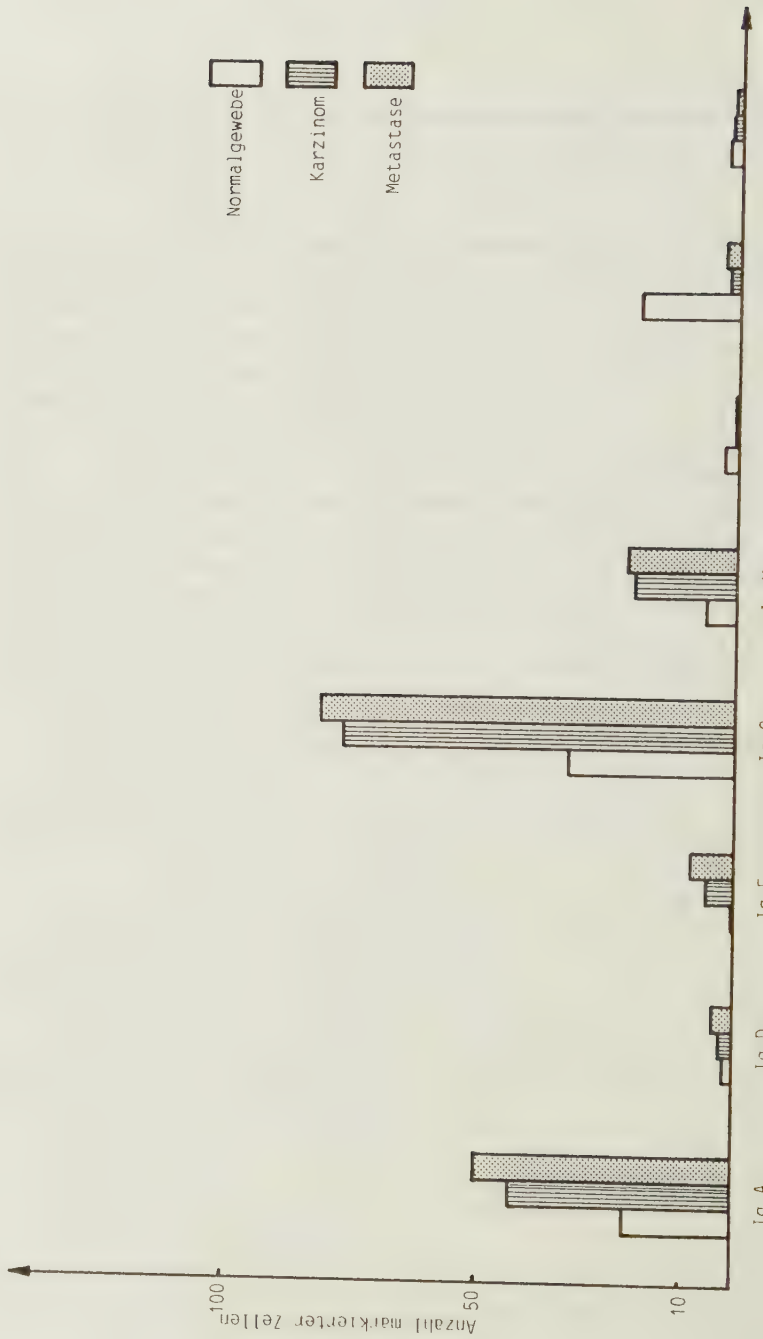
Anders ist die Verteilung von Zellen mit Kappa- und Lambdaketten, sowie der Mastzellen. Die häufigsten Reaktionen finden sich im Gesunden, weniger im Bereich des Primärherdes und der Metastase. Dabei sind Zellen des Lambda-Typs stärker vertreten als Kappa- oder Mastzellen.

Tabelle 9 :

3.3.3. Vergleich des Immunglobulinzell-Gehaltes aller Gewebearten in gesundem Mundhöhlengewebe, Karzinom und regionärer Lymphknotenmetastase :

Zelltyp	Normal	Karzinom	Metastase
Ig A	16,46 $\pm$ 7,12	42,67 $\pm$ 16,49	50,36 $\pm$ 15,98
Ig D	1,87 $\pm$ 1,15	2,56 $\pm$ 1,59	3,40 $\pm$ 1,94
Ig E	- -	5,23 $\pm$ 2,01	8,06 $\pm$ 3,06
Ig G	32,31 $\pm$ 6,10	76,76 $\pm$ 21,44	81,28 $\pm$ 22,41
Ig M	5,71 $\pm$ 1,23	19,60 $\pm$ 8,98	20,89 $\pm$ 6,33
Kappa	2,33 $\pm$ 0,20	- -	- -
Lambda	19,09 $\pm$ 5,09	2,18 $\pm$ 1,24	2,26 $\pm$ 1,04
Mastzellen	2,66 $\pm$ 0,81	1,60 $\pm$ 0,36	1,07 $\pm$ 0,21

Abb. 20 : Der Immunglobulinzell-Gehalt aller untersuchten Gewebearten in gesunden Mundhöhlengewebe, Karzinom und regionärer Lymphknotenmetastase :



3.3.4. Vergleich des Immunglobulinzell-Gehaltes zwischen Karzinom und Metastase nach Altersverteilung :

Tabelle 10 :

Prozentuale Verteilung der Altersgruppen :

Jahre	Fälle	%
30 - 50	4	17,4 %
51 - 60	5	21,7 %
61 - 70	10	43,5 %
71 - 80	4	17,4 %
Total	23	100,0 %

Die Erkrankungshäufigkeit war im sechsten Jahrzehnt stark erhöht, 43,5 % der Fälle lagen in dieser Altersgruppe, das entspricht der allgemeinen Inzidenz beim Mundhohlenkrebs, die ebenfalls ins sechste bis siebente Dezenium datiert wird.

Bei Zellen, welche das Immunglobulin Ig A enthielten, konnte ein langsames Ansteigen der ermittelten Werte von der Gruppe der 30-Jährigen bis zu den 70-Jährigen im Tumorrandgebiet verzeichnet werden. In der Gruppe der über 70-Jährigen wurde eine geringere Reaktion der Ig A-Zellen festgestellt. Auch die Verteilung im Bereich der Metastase folgt dieser Entwicklung mit einem deutlichen Abfall der Anzahl von Ig A-Zellen in der Gruppe der 71 - 80-Jährigen.

Ig D-Zellen weisen bei Patienten zwischen dem 30. - 50. Lebensjahr kaum einen Unterschied beim Tumor und der Filia auf, zwischen 51 - 60 Jahren sind beim Primärherd wenig, bei der Metastase deutlich mehr Reaktionen sichtbar. Die Altersgruppe zwischen 61 - 70 Jahren gelangt zu den höchsten Ig D-Werten im Bereich des Tumors innerhalb aller Altersstufen. Die Metastasenwerte liegen wesentlich darunter. Bei einem Patientenalter zwischen 71 - 80 Jahren konnte keine Ig D-Anfärbung im Gewebe von Tumor und Filia gefunden werden.

Bei Ig E-Zellen weisen die Altersstufen zwischen 30 - 60 Jahren im Tumorbereich nur geringe Schwankungen auf. Danach kommt es zu einer stufenweisen Abnahme der Werte, wobei im Alter zwischen 71 - 80 Jahren die geringsten Werte ermittelt wurden. Bei der Metastase bleibt die Häufigkeitsverteilung zwischen 30 - 70 Jahren fast konstant, nur bei den 71.- 80.-Jährigen kommt es zu einem deutlichen Absinken des Wertes. Dabei liegt der Metastasenwert stets ein Drittel höher als beim Primärtumor.

Ig G-Zellen sind die am häufigsten gefundene Immunglobulinklasse. Es gibt nur geringe Schwankungen bei den Tumorwerten, eine niedrigere Reaktionshäufigkeit findet sich in der Gruppe der 30 - 50 und der 61 - 70-Jährigen. Im Bereich der Metastase sind Ig G-Zellen weit häufiger als beim Primärherd, lediglich bei der Altersgruppe von 71 - 80 Jahren sinkt die Anzahl von Reaktionen erheblich ab.

Bei Zellen mit Ig M enthält das Tumorgebiet etwa doppelt so viele Ig M-Zellen als die Metastase, nur zwischen 61 - 70 Jahren wurden beim Karzinom und der Absiedlung gleichviele Ig M-Zellen ausgezählt. Ig M stellt die dritthäufigste Immunglobulinklasse dar.

Kappaketten waren weder in Zellen des Tumorrandes noch der Metastase nachweisbar.

Lambdaketten werden in allen Altersgruppen, sowohl in Zellen des Karzinombereiches als auch der Filia etwa gleichermaßen häufig gefunden.

Auch bei den Mastzellen sind keine auffälligen Unterschiede zwischen Tumor und Metastase vorhanden, eher sind weniger Reaktionen in der Region der Absiedlung feststellbar.

Die Verteilung der einzelnen Zelltypen im jeweiligen Erkrankungsalter ist der Tabelle 11 zu entnehmen.

Tabelle 11 :

3.3.4. Vergleich des Immunglobulinzell-Gehaltes in Mundhöhlenkarzinomen und ihren regionären Lymphknotenmetastasen nach der Altersverteilung :

Zelltyp	Patientenalter			Jahre	Total
	30 - 50	51 - 60	61 - 70	71 - 80	
Ig A					
Tumor	24,75	45,48	54,20	47,20	171,63
Metastase	44,75	55,44	63,28	19,30	182,77
Total	69,50	100,92	117,48	66,50	354,40
Ig D					
Tumor	9,30	5,70	14,70	-	29,70
Metastase	8,50	12,60	10,25	-	31,35
Total	17,80	18,30	24,95	-	61,05
Ig E					
Tumor	7,37	7,97	5,47	3,77	24,58
Metastase	9,97	9,17	9,48	5,90	34,52
Total	17,34	17,14	14,95	9,67	59,10
Ig G					
Tumor	68,95	78,00	70,17	79,60	296,72
Metastase	74,52	86,50	93,13	51,90	306,05
Total	143,47	164,50	163,30	131,50	602,77
Ig M					
Tumor	51,40	39,13	26,05	48,40	164,98
Metastase	19,90	20,58	27,31	26,53	94,32
Total	71,30	59,71	53,36	74,93	259,30
Kappa	Keine Reaktion feststellbar !				

3.3.4. Fortsetzung :

Zelltyp	Patientenalter			Jahre	Total
	30 - 50	51 - 60	61 - 70	71 - 80	
Lambda					
Tumor	4,65	3,00	4,62	4,96	17,23
Metastase	3,35	3,15	4,41	4,17	15,08
Total	8,00	6,15	9,03	9,13	32,31
Mastzellen					
Tumor	1,30	1,80	1,37	2,04	6,51
Metastase	0,85	1,24	1,04	1,20	4,33
Total	2,15	3,04	2,41	3,24	10,84

Tabelle 12 :

Verteilung der histologischen Differenzierungsgrade von Tumor und regionärer Lymphknotenmetastase auf die verschiedenen Altersstufen :

Histolog. Diff-Grad	Patientenalter			Jahre	Total
	30 - 50	51 - 60	61 - 70	71 - 80	n = 46
I	1	2	7	4	14
II	7	5	8	-	20
III	-	3	5	4	12
Total	8	10	20	8	46

Abb. 21 : Der Immunglobulinzell-Gehalt in Mundhöhlenkarzinomen und regionären Lymphknotenmetastasen nach Zelltyp und Altersgruppen aufgetragen :

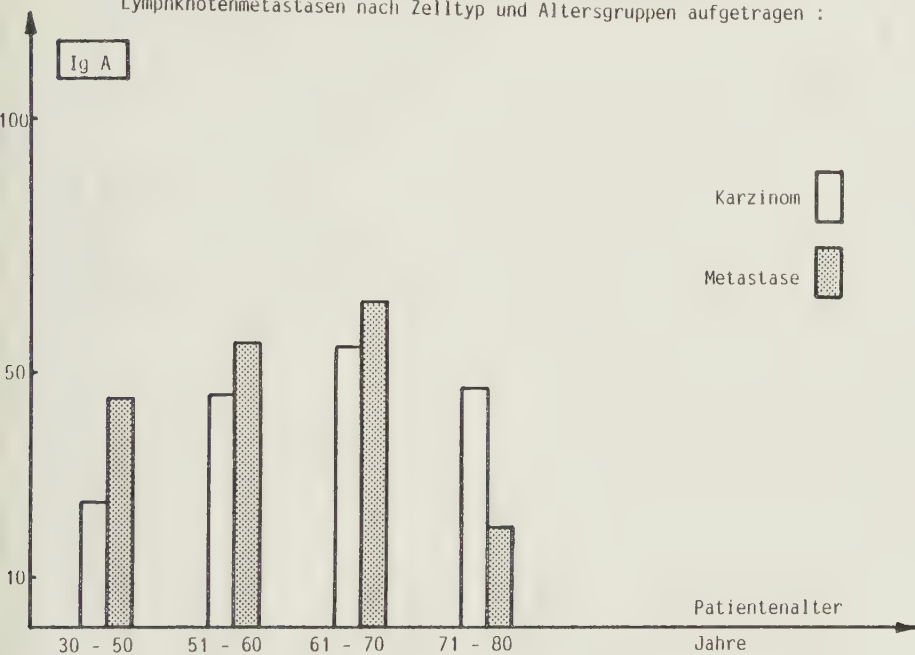


Abb. 22 : Der Immunglobulinzell-Gehalt in Mundhöhlenkarzinomen und regionären Lymphknotenmetastasen nach Zelltyp und Altersgruppen aufgetragen :

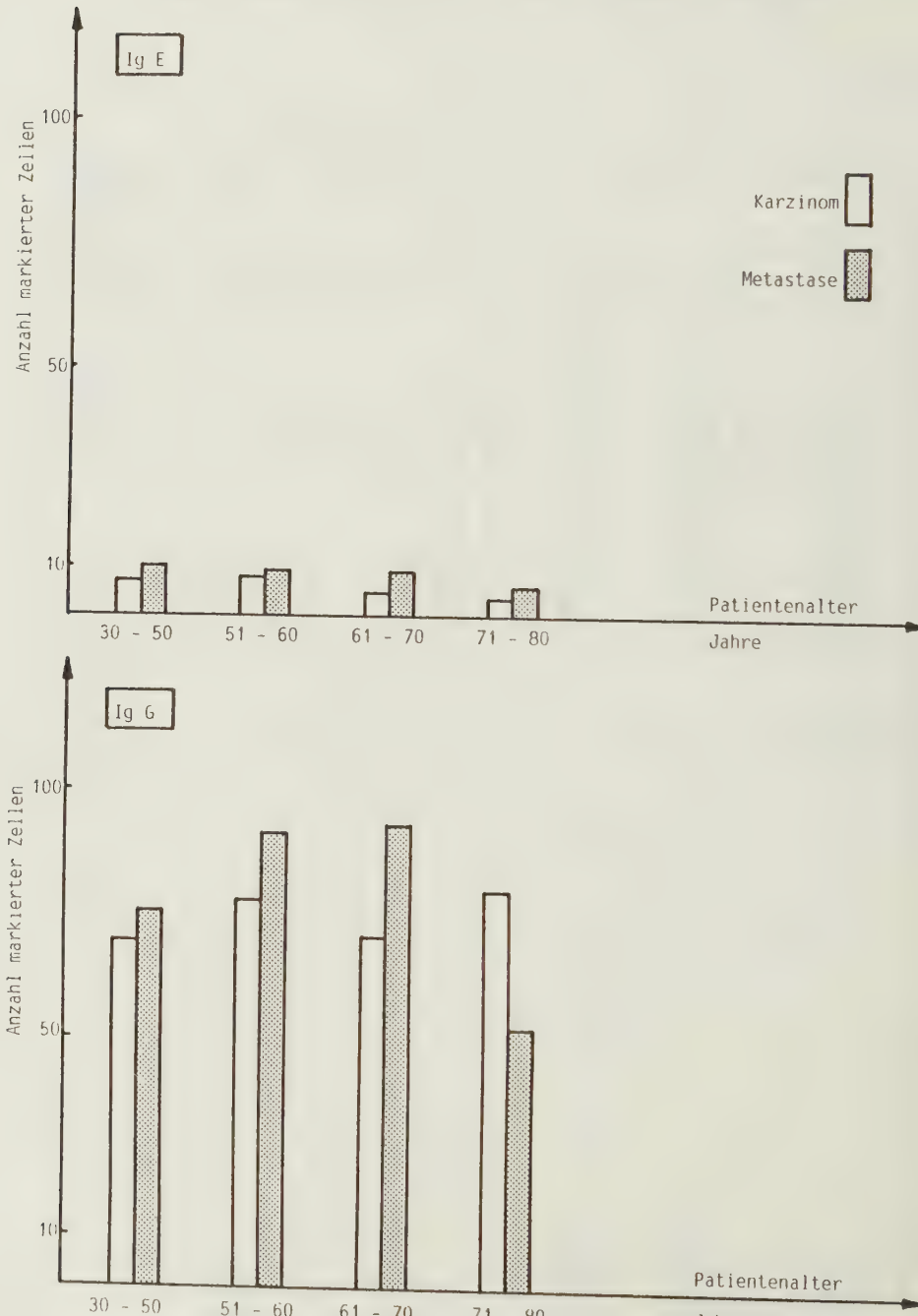


Abb. 23 : Der Immunglobulinzell-Gehalt in Mundhöhlenkarzinomen und regionären Lymphknotenmetastasen nach Zelltyp und Altersgruppen aufgetragen :

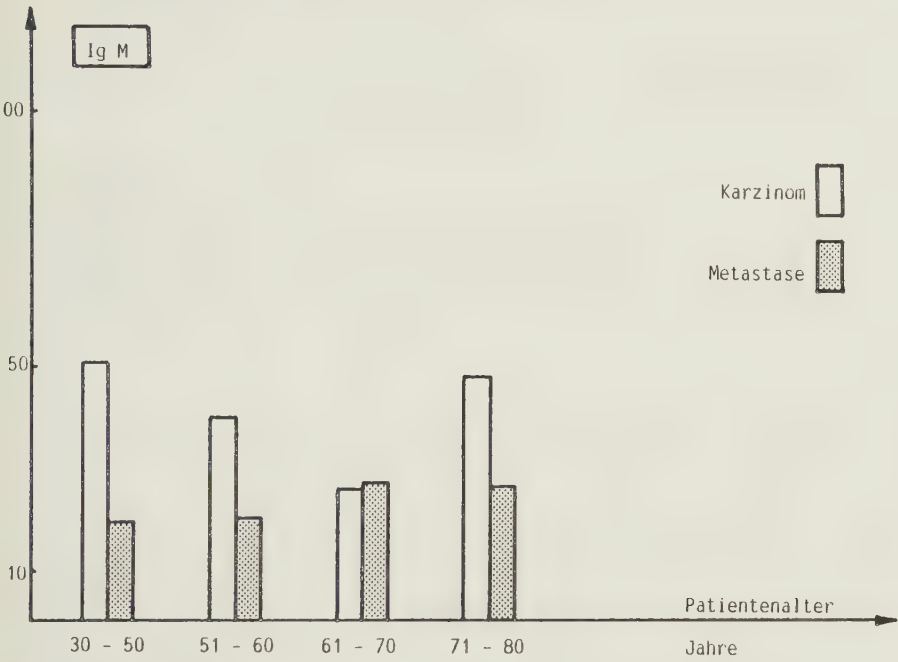
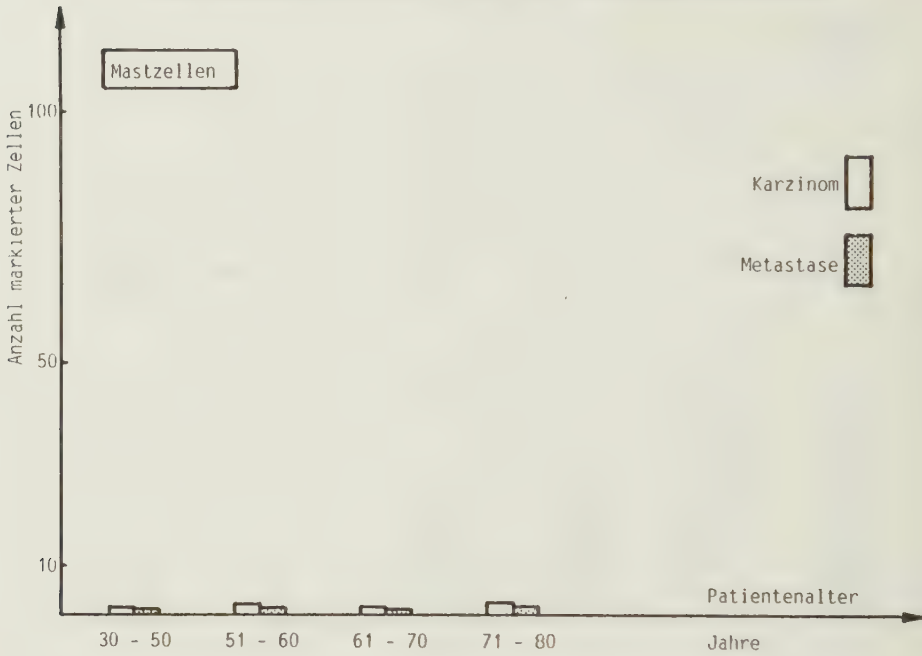


Abb. 24 : Der Immunglobulinzell-Gehalt in Mundhöhlenkarzinomen und regionären Lymphknotenmetastasen nach Zelltyp und Altersgruppen aufgetragen :



Zellen mit Kappaketten konnten in keiner der Altersgruppen, weder beim Primärtumor noch in der Metastasenregion nachgewiesen werden !

3.3.5. Vergleich des Immunglobulinzell-Gehaltes in Mundhöhlenkarzinomen und ihren regionären Lymphknotenmetastasen nach dem TNM-Status :

Bei neoplastischen Prozessen unterhalb von 3 cm im Durchmesser stellt man im Bereich der Metastase eine leichte Vermehrung von Zellen mit Ig A, Ig D, Ig E und Ig G gegenüber der Tumorregion fest. Zellen mit Ig M und Lambdaketten, sowie Mastzellen sind um die Absiedlung herum weniger häufig zu finden als im Areal des Primärherdes.

Ig A-, Ig G- und Ig D-Zellen sind in der Umgebung von Tumoren mit mehr als 3 cm Ausdehnung erheblich häufiger zu sehen als in der Gruppe I, Durchmesser kleiner als 3 cm. Jedoch sind diese Zelltypen bei den Metastasen weniger zu finden als beim Primärtumor. Bei Ig M-Zellen ist der Unterschied zwischen Karzinom und Metastase in der Häufigkeitsverteilung nur sehr gering. Zellen mit Ig E und Lambdaketten sind in der Metastasenumgebung von Tumoren der Gruppe II, über 3 cm Größe, leicht vermehrt.

Bei den Mastzellen besteht kaum eine Differenz zwischen beiden Gruppen, lediglich bei Tumoren über 3 cm findet sich eine leichte Vermehrung.

Zellen mit Kappaketten konnten in keiner der Gruppen, weder unter 3 cm noch darüber, nachgewiesen werden.

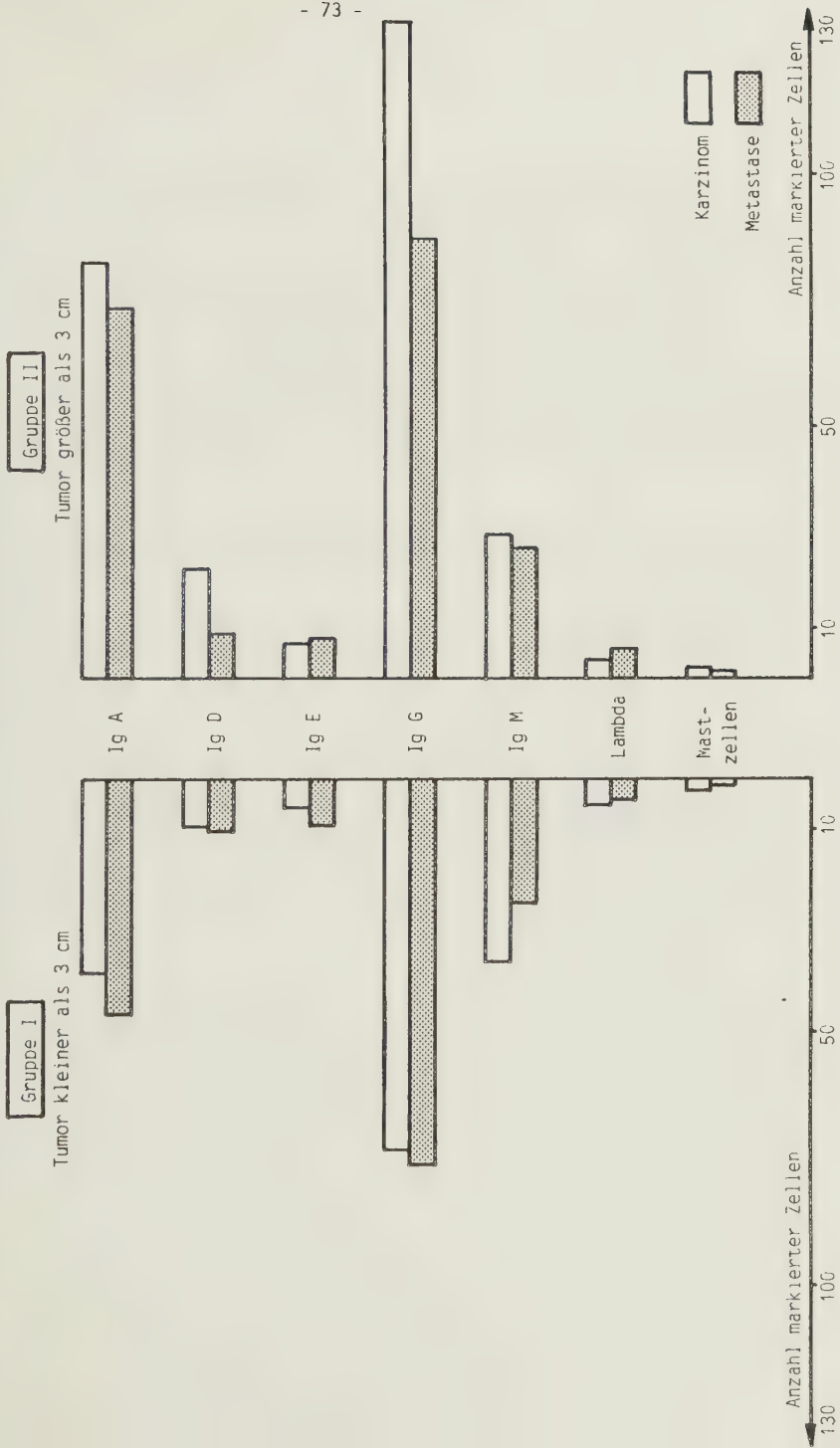
Die genaue Häufigkeitsverteilung beider Gruppen ist aus Tabelle 12 ersichtlich.

Tabelle 13 :

3.3.5. Vergleich des Immunglobulinzell-Gehaltes in Mundhöhlenkarzinomen und ihren regionären Lymphknotenmetastasen nach dem TNM-Status :

Zelltyp	Gruppe I Tumor kleiner 3 cm		Gruppe II Tumor größer als 3 cm	
	Karzinom	Metastase	Karzinom	Metastase
Ig A	38,64 $\pm$ 12,62	46,92 $\pm$ 16,93	82,46 $\pm$ 23,99	73,30 $\pm$ 27,48
Ig D	9,35 $\pm$ 2,61	9,92 $\pm$ 2,53	21,70 $\pm$ 9,98	8,70 $\pm$ 2,23
Ig E	5,87 $\pm$ 2,28	9,02 $\pm$ 3,42	6,83 $\pm$ 2,98	7,70 $\pm$ 2,23
Ig G	72,42 $\pm$ 22,51	75,43 $\pm$ 17,46	129,83 $\pm$ 22,35	86,96 $\pm$ 34,59
Ig M	35,88 $\pm$ 9,75	24,34 $\pm$ 10,48	28,15 $\pm$ 4,59	25,63 $\pm$ 6,47
Lambda	4,64 $\pm$ 1,72	3,92 $\pm$ 1,18	3,90 $\pm$ 0,99	6,10 $\pm$ 2,02
Mastzellen	1,53 $\pm$ 0,36	1,08 $\pm$ 0,23	2,10 $\pm$ 0,91	1,03 $\pm$ 0,25
Kappa	Keine Reaktion !		Keine Reaktion !	

Abb. 25 : Der Immunglobulinzell-Gehalt in Mundhöhlenkarzinomen und ihren regionären Lymphknotenmetastasen in Beziehung zur Ausdehnung des Primärtumors aufgetragen (Einteilung nach dem TNM-Status) :



3.3.6. Das Verhalten der einzelnen Immunglobulintypen untereinander :

Bei einer Betrachtung der verschiedenen Plasmazellfraktionen und ihrer Verteilung untereinander kann man eine gewisse Proportionalität feststellen. Dieses Verhältnis, das bereits in gesundem Mundhöhlengewebe zu finden ist, ändert sich im Prinzip nicht. Es bleibt auch im Randbereich der Neoplasien erhalten, wenngleich hier beim Primärherd und noch stärker bei der Metastase eine deutlich ausgeprägte Vermehrung der antikörperhaltigen Zellen zu verzeichnen ist.

Am häufigsten werden Ig G-Zellen gefunden. Bereits im Gesunden sind Ig G-Zellen der am Stärksten vertretene Immunglobulintyp, ihre Häufigkeit steigt in der Tumorregion um das Zweifache und im Bereich der Metastase sogar um das Zweieinhalbfache des in gesundem Gewebe ermittelten Wertes. Dies wiederholt sich in fast jeder Teiluntersuchung.

Zellen vom Ig A-Typ bilden sowohl im Gesunden, als auch im neoplastischen Gewebe die zweitstärkste Immunglobulinklasse. Zwar ändert sich die ermittelte Häufigkeit manchmal, vor allem in unterschiedlichen Gewebearten, wie Muskel (Zunge) oder lymphatischem Gewebe (Tonsille), das Verhältnis zu den übrigen Immunglobulinzellen bleibt jedoch insgesamt konstant. Zumeist wird im Metastasenbereich eine Vermehrung von Ig A-Zellen beobachtet, aber auch die Tumorränder weisen zuweilen erhebliche Anreicherungen an Ig A-Zellen auf.

Hinter Zellen des Ig G- und Ig A-Typs folgen Ig M-Zellen an dritter Stelle der häufig gefundenen Immunglobulinzellen. Im Normalgewebe kommen Ig M-Zellen häufig vor, sind jedoch im Gebiet von Tumor und Metastase um den Faktor 4 vermehrt. Oft ist die Absiedlung geringer von Ig M-Zellen infiltriert als der Primärherd, das zeigt sich vor allem in der Beziehung zur Altersverteilung und dem TNM-Status.

Ig D-Zellen stellen nur einen kleinen bis mäßigen Anteil an der Plasmazellfraktion. In der Häufigkeit kommt es kaum zu Schwankungen zwischen Gesundem, Primärtumor und Filia, weder die verschiedenen histologischen Differenzierungsgrade noch die Beziehung zum TNM-Status machen eine Ausnahme.

Die Zellen, die Ig E enthalten, sind in gesundem Mundhöhlengewebe fast gar nicht vorhanden, dafür aber vermehrt beim Karzinom und nochmals in höherer Zellzahl bei der Absiedlung. Dieses Verhalten zeigt sich in allen durchgeführten Teiluntersuchungen.

Zellen mit Kappaketten sind lediglich in den gesunden Referenzfällen nachweisbar, sonst waren sie in keiner der untersuchten Gewebeproben aufzufinden.

Auch Lambdaketten sind vorwiegend in Zellen von gesundem Gewebe vorhanden, weder das Karzinom noch die Metastase weisen in ihrer Umgebung erhebliche Anteile von Zellen des Lambda-Typs auf. Dieses Ergebnis ist in allen Teilaspekten gleich.

Mastzellen lassen sich deutlich häufiger in gesundem Mundhöhlengewebe nachweisen, ihre Häufigkeit nimmt im Bereich des Primärtumors ab und in der Metastasenregion sind Mastzellen kaum noch zu finden.

4. Diskussion :

Die Mundhöhle als Ort der Nahrungsaufnahme stellt mit ihrer Schleimhaut eine große Kontaktfläche für exogene Stoffe, Mikroorganismen und verschiedene Noxen dar. Dabei erfüllt die Mundschleimhaut auch die Funktion einer immunologischen Schranke (Bos, 1978).

Bereits unter normalen Bedingungen treten B-Lymphozyten und Plasmazellen mit Ig A und Ig G im Stratum proprium auf (Lai a Fat et al., 1974; Löning et al., 1977). Auch in der vorliegenden Arbeit konnten in gesundem Mundhöhlengewebe subepithelial gelegene Plasmazellen mit Ig A und Ig G nachgewiesen werden. Daneben fanden sich auch Zellen mit Ig M und vor allem mit Lambdaketten in nicht unerheblicher Anzahl, sowie Mastzellen. Dies bestätigt die vorgenannten Untersuchungen und steht im Gegensatz zu der Ansicht, daß in der normalen Schleimhaut der Mundhöhle keine ortsständige humorale Immunreaktion stattfindet (Brandtzaeg, 1975).

Die wichtigste Erkrankung der Mundschleimhaut ist das Plattenepithelkarzinom, das ca. 2,5 % aller Krebsfälle ausmacht. Die Inzidenz ist im 6. und 7. Lebensjahrzehnt am höchsten, in dieser Untersuchung lag das Durchschnittsalter männlicher Patienten bei 59,8; weiblicher Patienten bei 65,8 Jahren, was in etwa dieser Angabe aus großen Statistiken entspricht. Das Verhältnis Frauen zu Männern betrug 1 : 3,6, was weitgehend mit den Ergebnissen anderer Autoren übereinstimmt (Helfrich et al., 1972: 1 : 5; Fayos und Lampe, 1972: 1 : 4,2; Harrold, 1971: 1 : 4). Bei der Ätiologie wird ein enger Zusammenhang zwischen Alkoholabusus und starkem Rauchen vermutet (Schultz-Coulon und Schmidt, 1982; Graham, 1977; Johnston, 1977).

Die plasmazelluläre Infiltration im Bereich der Mundhöhlenkarzinome und ihrer regionären Lymphknotenmetastasen zeigte eine deutliche Vermehrung von Ig A-, Ig D-, Ig G- und Ig M-Zellen. Bei Zellen mit Ig A, Ig G und Ig M betrug die Zunahme gegenüber der Population in gesundem Mundhöhlengewebe das Doppelte (Ig G 2,3), das Zweieinhalbfache (Ig A 2,6) bzw. das Dreifache (Ig M 3,4) . Das entspricht den Untersuchungen, die von Löning et al. 1977 angestellt wurden. Dort fanden sich lediglich für Ig A und Ig G diese Vermehrung, Ig M war nicht signifikant erhöht.

Auch beschränkte sich die Studie von Löning auf Plasmazellen mit Ig A, Ig G und Ig M, andere Immunglobulinklassen wurden nicht einbezogen. Man untersuchte auch nicht getrennt nach Gewebetyp. Bei der vorliegenden Arbeit konnte eine durchweg größere Anzahl von Immunglobulinzellen im Bereich der Metastase gegenüber dem Primärherd festgestellt werden. Lambdaketten, Kappaketten und Mastzellen spielen dabei eine untergeordnete Rolle.

Der histologische Differenzierungsgrad der Karzinome zeigt ebenfalls eine Beziehung zur plasmazellulären Infiltration, wobei mäßig differenzierte Plattenepithel-Karzinome und ihre Metastasen eine deutlich geringere Anzahl von Ig A-, Ig G- und Ig M-Zellen gegenüber hoch differenzierten, aber auch entdifferenzierten Neoplasien aufweisen. Gering differenzierte Karzinome erreichen dabei die höchsten Werte, dies steht im Widerspruch zu einer Studie von Burkhardt und Seifert (1977), die in 23 Karzinomen eine stärker ausgeprägte Reaktion bei hochdifferenzierten Tumoren und eine Abnahme der Anzahl von Plasmazellen mit der Entdifferenzierung nachwies. Es erscheint möglich, daß histologisch gering differenzierte Plattenepithelkarzinome durch den partiellen oder kompletten Verlust von Zellmembranantigenen eine vermehrte Infiltration von Plasmazellen hervorrufen (Übersicht bei Dabelsteen, 1980). Dabei könnte die Gruppe der mäßig ausdifferenzierten Karzinome eine Mittelstellung einnehmen, die durch unterschiedliche Entwicklungsstadien und Zelllinien erklärbar wäre.

Das Alter der Patienten spielt bei der Ausprägung der Entzündungszell-Infiltration ebenfalls eine Rolle. Die durchweg geringere Anzahl von Zellen mit Ig A, Ig D und Ig G in der Gruppe der 71 - 80-Jährigen ist ein deutlicher Hinweis dafür. Vor allem, da auch die Metastasenregion in dieser Altersgruppe nochmals weniger Immunglobulinzellen aufweist als der Primärtumor. Der Abfall des Gehaltes an Plasmazellen in Mundhöhlenkarzinomen und ihren Lymphknotenmetastasen bei fortgeschrittenem Erkrankungsalter könnte auf eine allgemeine Abnahme der humoralen als auch zellulären Immunität in höherem Lebensalter hinweisen, wie sie von einigen Autoren angenommen wird (Knapp et al., 1982; Scheurlen, 1982).

Die räumliche Ausdehnung des Primärtumors zeigt ebenfalls eine deutliche Beziehung zur Stärke der zellulären Infiltration. Karzinome mit einem Durchmesser über 3 cm weisen eine fast doppelte Anzahl von Zellen mit Ig A, Ig D und Ig G gegenüber Primärherden geringerer Größe auf. Dabei sind Ig M-Zellen in Neoplasien mit einer Ausdehnung unter 3 cm vermehrt zu finden. In den Metastasen der Tumoren über 3 cm fällt die plasmazelluläre Infiltration wesentlich schwächer aus als in den Primärtumoren, zwar ist die Verteilungshäufigkeit von Ig A-, Ig G- und Ig M-Zellen rein zahlenmäßig immer noch höher als in den Metastasen der Karzinome von geringerer Größe, aber der Abfall ist doch offensichtlich. Dieser Sachverhalt ließe sich einmal durch die vergrößerte Oberfläche der Tumoren und damit einer größeren Kontaktfläche für Immunzellen (Lymphozyten, Plasmazellen, Makrophagen) erklären. Zum anderen könnte bei der Überschreitung einer bestimmten räumlichen Grenze das lokale Immunsystem überfordert werden und somit die Anzahl der Plasmazellen in den Lymphknotenmetastasen ausgedehnterer Karzinome vermindert sein. Dieses Teilergebnis scheint mit Beobachtungen übereinzustimmen, die ebenfalls eine Abschwächung der Infiltration von Plasmazellen, Lymphozyten und Makrophagen im Metastasenbereich oraler Karzinome beschreibt (Burkhardt, 1980).

Das Verhältnis der Plasmazell-Fraktion bleibt insgesamt erhalten, diese Proportionalität findet sich in Normalgewebe, Karzinom und regionärer Lymphknotenmetastase, wobei im Bereich der Filia die Anzahl der Zellen mit Ig A, Ig D, Ig E, Ig G und Ig M, bei Betrachtung aller Gewebearten, gegenüber dem Primärherd vermehrt ist.

Im Einzelfall lassen sich je nach dem Gewebetyp unterschiedliche Befunde erheben. So findet sich beim Mundboden eine starke Vermehrung von Ig A-, Ig E- und Ig G-Zellen im Bereich der Metastase, Ig D- und Ig M-Zellen dagegen sind im Tumor vermehrt vorhanden. Anders hingegen ist die Häufigkeitsverteilung in Zungengewebe, dort sind Ig A-, Ig D-, Ig G- und Ig M-Zellen beim Primärherd stärker als in der Absiedlung vertreten. In Tonsillen konnte Ig A im gesundem Gewebe am Häufigsten gefunden werden, mit einem sehr starken Abfall im Bereich des Tumors und einem mäßigen Anstieg in der Filia. Ig G- und Ig M-Zellen fanden sich im Primärherd gegenüber der Metastase vermehrt. Lippenge- webe zeichnet sich durch seinen sehr hohen Gehalt an Ig G-Zellen im Gesunden aus, Ig A- und Ig D-Zellen scheinen in Normalgewebe nicht vorzukommen, allerdings konnten Ig A-Zellen stark vermehrt im Tumor und nochmals erhöht in der Metastase beobachtet werden. In Gewebe von Drüsen und hartem Gaumen konnten

Ig A-Zellen praktisch nur in der Metastase nachgewiesen werden, das Gleiche trifft auch für Ig D-Zellen zu. Die Anzahl von Ig E- und Ig G-Zellen war im Bereich des Primärtumors gegenüber gesundem Gewebe vermindert, stieg jedoch in der Absiedlung wieder deutlich an.

Diese sehr voneinander abweichenden Befunde lassen sich durch die andersartige Morphologie der Gewebe und damit einer veränderten Zusammensetzung der lokalen Plasmazellpopulation erklären. Betont sei hier, daß andere Autoren (Burkhardt, Seifert, Löning, Bier) diese Unterscheidung nach Gewebeart nicht treffen, so- mit können Eigenheiten des Gewebetyps zum Teil nicht berücksichtigt werden.

Auffällig ist das Vorhandensein von Ig E-Zellen, die vermehrt im Karzinom und nochmals gehäuft in der Metastase auftreten. Dies könnte das fast vollständige Fehlen von Mastzellen in der Umgebung des neoplastischen Gewebes verständlich machen. Möglicherweise hat der vermehrte Ig E-Gehalt zu einer Degranulation der Mastzellen geführt, die dadurch einer Darstellung mit der Toluidin-Blau-Färbung entgangen sind. Die von einigen Autoren beschriebene Mastzellvermehrung bei Mamma-, Colon- und Bronchialkarzinomen konnte damit nicht bestätigt werden (Harveit, 1981; Svennevig, 1980). Es kann natürlich nicht ausgeschlossen werden, daß in dem fortgeschrittenen Stadium der malignen Erkrankung die akutentzündliche Komponente nur noch eine untergeordnete Rolle spielt und so- mit eine Vermehrung von Mastzellen nicht mehr feststellbar ist.

Die Ergebnisse klinischer Beobachtungen zeigen bei Mundhöhlenkarzinomen eine Erniedrigung des Serum-Ig M und Serum-Ig G (Jung et al., 1983) und eine Ver- mehrung des Ig A im Serum (Bier et al., 1977). Ähnliche Veränderungen der Immunglobulin-Zusammensetzung fanden sich im Speichel und Plasma bei Karzi- nomen im Oropharyngeal-Bereich (Brown et al., 1975; Wara et al., 1975; Nik- sic und Balogh, 1976; Gruber, 1984). Die Ig A-Erhöhung im Serum wird dabei als Folge einer Resorption des vermehrten Speichel-Ig A gedeutet, sie soll sich nach erfolgreicher Tumorthherapie zurückbilden (Niksic und Balogh, 1976), das Gleiche soll auch für das Serum-Ig M und Ig G zutreffen (Jung et al., 1983). Diese klinischen Studien deuten auf eine Störung der Immun-Homöostase hin, wie sie in der vorliegenden Arbeit auf den Tumor- und Metastasenbereich lokalisiert beschrieben wurde. Dabei kann die Zunahme von Ig A im Serum auf

die vermehrte Produktion von Ig A im Tumorareal zurückzuführen sein. Die beschriebene Verminderung von Ig M und Ig G im Serum läßt sich durch eine zunehmende Einwanderung von Plasmazellen ins Tumorgebiet und eine Veränderung der lokalen Immunglobulinsynthese erklären (Burkhardt, 1980).

Ähnliche Assoziationen von Plasmazellen mit Tumoren unterschiedlicher Histogenese haben zahlreiche Autoren beschrieben (Hurlimann et al., 1976; Lauder et al., 1977 für Mammakarzinome, hier herrschten Ig G-Plasmazellen vor; Johansson und Ljungquist, 1974 für Urothelkarzinome; Blaeser, 1975 für Kehlkopfkarzinome; Lewis und Proctor, 1976; Martin et al., 1977 für das maligne Melanom; Bustamante et al. 1978 für das Basaliom, maligne Melanom). Es gibt auch Hinweise, daß bei hochdifferenzierten Plattenepithel-Karzinomen das Vorkommen von Plasmazellen häufiger auftreten soll (Joachim, 1976; Viac et al., 1977; Bustamante et al., 1978).

Eine Tumorthherapie würde danach diese Verschiebung der plasmazellulären Verteilung im Bereich des Karzinoms und der regionären Lymphknotenmetastase beseitigen und zu einer Normalisierung der Werte führen. Somit stellt die vorliegende Arbeit das Bindeglied zwischen klinischer Beobachtung und histologischer Befunderhebung bei Mundhöhlenkarzinomen dar.

Im Rahmen der " immune surveillance " (Burnett, 1971) wurde die Entzündungszell-Infiltration im Karzinombereich als " Abwehrvorgang " und prognostisch günstig gedeutet (Moore und Foote, 1949; Sauer und Burke, 1949; Berg, 1959; Black et al., 1965; Hamlin, 1968; Cochran, 1969; Bloom et al., 1970; Bennet et al., 1971; Lund et al., 1975; Berman, 1975) selbst für metastasierte Karzinome sollte dies zutreffen (Hersh et al., 1976).

Eine antigene Wirkung oraler Karzinome konnte nachgewiesen werden (Cannell, 1973). Man glaubt an eine lokale Immunabwehr in Form eines entzündlichen Infiltrates mit überwiegender Ig G-Produktion. Aber ist es wirklich eine Abwehr des Tumors oder ist das Infiltrat zwar Substrat für einen immunologischen Vorgang, der aber im Endeffekt dem Wachstum und der Ausbreitung förderlich ist ?

In der lymphatischen Infiltration verändert sich auch die Zusammensetzung der T-Lymphozytenfraktion (normale orale Mukosa : OKT 4 (T-helferzellen) 2 % zu OKT 8 (T-Suppressorzellen) 22 %; im Plattenepithelkarzinom dagegen OKT 4 4 % zu OKT 8 52 %; Löning, 1984). Es zeigt sich im tumornahen Gewebe ein erheblicher Anteil an Suppressorzellen, die eine lokale Immunsuppression bewirken und somit dem neoplastischen Gewebe bei der Ausbreitung Vorschub leisten könnten. Diese Immunsuppression konnte bislang in verschiedenen menschlichen Tumoren nachgewiesen werden (Blasenkarzinom, Hypernephrom und malignes Melanom; Lewis, 1972; Plescia et al., 1976; Kjaer und Bendixen, 1976; Perlmann et al, 1977). Für Mundhöhlenkarzinome könnte es ebenfalls einen Hinweis auf eine Suppression der natürlichen Killerzellaktivität im peripheren Blut geben (Vinzenz et al., 1983). Die Studie wurde an 23 Patienten mit fortgeschrittenen Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle und tumordrainingen Lymphknoten durchgeführt.

Die vorliegende Arbeit kann aufgrund der verwendeten Untersuchungsverfahren keine Aussage über Art und Beschaffenheit der Antigene machen, gegen die die verschiedenen Immunglobuline in den Zellen gerichtet sind. Es ist sehr wahrscheinlich , daß es sich um Tumor-assoziierte Antigene auf der Oberfläche maligner Zellen handelt. Eine sichere Aussage hierzu ist nur durch weitere, differenziertere Untersuchungen möglich. Die hier beschriebene Veränderung der lokalen Immun-Homöostase müßte weiter erforscht und ihre Natur entschlüsselt werden, da der direkte Kontakt zwischen Karzinomzellen und Zellen des Immunsystems die Frage der Interaktion klären könnte. Die hier angestellten Untersuchungen können ein weiterer Hinweis in der morphologisch-klinischen Diagnostik von Mundhöhlenkarzinomen darstellen. Sie könnten auch zu einer besseren Klassifizierung von Plattenepithelkarzinomen durch die Anwendung histochemischer Methoden führen. Weitere Forschungsergebnisse müssen sie ergänzen und vervollständigen, um diese offenen Fragen beantworten zu können.

5. Zusammenfassung :

Die lympho-plasmazelluläre Infiltration von 23 Mundhöhlenkarzinomen und ihren regionären Lymphknotenmetastasen wurde untersucht und mit 11 Proben von gesundem Mundhöhlengewebe verglichen. Es wurde zwischen der allgemeinen morphologischen Zusammensetzung des Infiltrates und der plasmazellulären Verteilung unterschieden. Die verschiedenen Immunglobulinzellen (Ig A, Ig D, Ig E, Ig G, Ig M, Kappaketten und Lambdaketten) wurden mit der indirekten, enzymkonjugierten Immunperoxidase-methode nachgewiesen. Gewebsmastzellen wurden mittels Toluidin-Blau-Färbung bei niedrigem pH-Wert dargestellt. Der Gehalt und das Verteilungsmuster der Immunglobulin-haltigen Zellen wurde bestimmt und mit dem Differenzierungsgrad der Karzinome, dem Gewebetyp, dem Patientenalter und dem TNM-Status in Beziehung gesetzt. Die Untersuchung führte zu folgenden Ergebnissen :

1. Primärtumoren zeigen in 47,8 % eine starke und in 34,8 % der Fälle eine mäßige Infiltration mit Plasmazellen. Im Metastasenbereich waren 43,5 % stark und 43,5 % mäßig mit Plasmazellen infiltriert. Lymphozyten, Granulozyten, Mastzellen und Eosinophile waren nur gering bis mäßig vorhanden. Metastasen zeigten in 4,3 % eine starke Fibrose und in 8,7 % eine starke Nekrotisierung.
2. Die Immunglobulinzellen fanden sich subepithelial in unmittelbarer Nähe zu Tumorzellen oder umgaben Karzinomzellnester ringwallartig. Dabei war die Zellmembran erhalten und das Färbemuster der Immunglobulin-haltigen Zellen weist drei Hauptformen auf (ringförmig, kappenförmig und spindelförmig). In 30,4 % aller Fälle sind Karzinomzellen vereinzelt angefärbt.
3. Bei den histologischen Differenzierungsgraden konnte ein deutlich höherer Gehalt an Ig A-, Ig G- und Ig M-Zellen in gering differenzierten Karzinomen gegenüber den beiden anderen Differenzierungen gefunden werden. Dabei ist der Immunglobulinzell-Gehalt in mäßig ausdifferenzierten neoplastischen Geweben geringer als in hoch- aber auch geringdifferenzierten Karzinomen.

4. Bei dem Vergleich des Immunglobulinzell-Gehaltes von gesundem Gewebe, Karzinom und Lymphknotenmetastase kann beim Primärtumor und der Filia eine erhebliche Vermehrung von Ig A, Ig G, Ig E und Ig M auf das Doppelte, bzw. Zweieinhalbfache der in Normalgewebe gefundenen Werte beobachtet werden. Nach den einzelnen Gewebetypen aufgeschlüsselt, ergibt sich ein heterogenes Bild durch die Eigenschaften der unterschiedlichen Gewebe (z.B. Lymphatischen Gewebe, Tonsille gegenüber Muskel, Zunge).
5. In der Altersverteilung zeigt sich ein deutlicher Abfall der Anzahl von Ig A-, Ig D- und Ig G-Zellen in der Altersgruppe der 71 - 80-Jährigen. Diese Abnahme ist in der Metastasenregion noch stärker ausgeprägt.
6. Die Tumorausdehnung (nach dem TNM-Status) hat ebenfalls Auswirkungen auf die Infiltration von Ig A, Ig D und Ig G, die in Karzinomen über 3 cm Durchmesser fast doppelt so häufig sind, wie in Primärtumoren geringerer Größe. Der Gehalt an Zellen mit Ig A, Ig D, Ig G und Ig M fällt in den Metastasen der Tumoren über 3 cm Durchmesser erheblich schwächer aus als im Primärherd.
7. Die relative Vermehrung von Ig E-Zellen im Bereich des Tumors und noch stärker in den Metastasen geht mit einer gleichzeitigen Abnahme der Mastzellen einher. Es ist bekannt, daß die Degranulation von Mastzellen durch Anlagerung von Ig E an die Mastzellmembran erfolgt. Dadurch werden vermehrt Entzündungsmediatoren frei, die für das Auftreten von Nekrosen und reaktiven Fibrosen verantwortlich gemacht werden, wie sie insbesondere in den Metastasen vorgefunden wurden.

Die Befunde zeigen durch die Darstellung aller Immunglobulinklassen und der Mastzellen eine Veränderung der lokalen Immun-Homöostase der Mundhöhlengewebe bei malignen Erkrankungen. Wobei das Auftreten eines lympho-plasmazellulären Infiltrates und die Erhöhung des Gehaltes an Ig A-, Ig G-, Ig E- und Ig M-Zellen charakteristisch sind. Die Interaktion des Organismus mit Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle wird von humoralen Faktoren mitbestimmt, dabei kommt Zellen mit Ig A, Ig G, Ig E und Ig M eine besondere Bedeutung zu.

6. Literaturverzeichnis

- 1 Alexander, P : The role of Mast cells in experimental tumours
Pitman Medical Publishing Co. Ltd, 1979
- 2 Allison, A.C. : Interactions of antibodies and effector cells in
immunity against tumours. Ann. Inst. Pasteur 122, 619 (1972)
- 3 Asboe-Hansen, G., Levi, H., Wegelius, O. : Mast cells and intercellular
Mucopolysaccharides in Rous Fowl Sarcoma, Cancer Res. 17, 792-796
(1957)
- 4 Asboe-Hansen, G. : The Mast Cell in health and disease. Acta Dermovenereol.
73, 139-148 (1973)
- 5 Banks, P.M. : Diagnostik application of an immunoperoxidase method in
hematopathology. J. Histchem. Cytochem. 27, 1192 (1979)
- 6 Begemann, M. : Med. Klin. 76, 118 (1981)
- 7 Bennet, S.H., Futrell, J.W., Roth, J.A., Hoyer, R.C., Ketcham, A.S. :
Prognostic significance of histologic host response in cancer of
the larynx or hypopharynx. Cancer 28, 1255 (1971)
- 8 Berg, J.W. : Inflammation and prognosis in breast cancer. Cancer 12, 714
(1959)
- 9 Berman, L.D. : Immune parameters in the host response to neoplasia: morpho-
logical considerations. In : Immunity and cancer in man. Ed. A.E. Reif
pp. 103. Marcel Dekker Inc. New York 1975
- 10 Bier, J., Bitter, K., Nicklisch, U. : Immundefekte bei Patienten mit
Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle. Dtsch. Z. Mund-Kiefer-Ge-
sichts-Chir. 1, 210-228 (1977)
- 11 Bier, J., Bitter, K., Nicklisch, U. : Unspecific, cellular immunity be-
fore therapie in patients with squamous cell carcinoma of head and
neck. J. Max-fac. Surg. 6, 75 (1978)

- 12 Bierich, R. : Über die Beteiligung des Bindegewebes bei der experimentellen Krebsbildung. *Virchows Arch. path. Anat.* 239, 1-19 (1922)
- 13 Black, M.M., Opler, S.R., Speer, F.D. : Structural representations of tumor-host relationship in gastric carcinoma. *Surg. Gynecol. Obstet* 102, 599 (1965)
- 14 Bloom, H.J., Richardson, W.W., Field, J.R. : Host resistance and survival in carcinoma of breast. *Br. Med. J.* III, 181 (1970)
- 15 Bloom, E.T., David, J.R. : *Invitro methods in cell-mediated and tumor immunity.* Academic Press, New York 1976
- 16 Böhnig, R. : Das Krebsstroma und seine morphologischen Reaktionsformen. *Beitr. path. Anat.* 83, 333 (1930)
- 17 Bos, J. : *Orale Mukosa als lympho-retikulo-epitheliales Immunsystem. Experimentelle Untersuchungen über die Abwehrmechanismen der Mundschleimhaut.* Diss. Hamburg 1978
- 18 Bos, J, Burkhardt, A. : Interepithelial cells of the oral mucosa. Light and electron microscopic observations in germfree, specific pathogen-free and conventionalized mice. *J. Oral Pathol.* 9, 65 (1980)
- 19 Bos, J., Burkhardt, A. : Epithelial and interepithelial mitoses of the oral mucosa. Light and electron microscopic study in mice after exposure to different antigens. *J. Invest. Dermatol.* 76, 63 (1981)
- 20 Brandtzaeg, P. : Local factors of resistance in the gingival area. *J. Periodont. Res.* 1, 19 (1966)
- 21 Brandtzaeg, P. : Immunglobulin systems of oral mucosa and saliva. In : *Oral mucosa in health and disease.* Ed.: E. A. Dolby; Blackwell Scientific Publications: Oxford-London-Edinburgh-Melbourne 1975
- 22 Broder, S., Waldmann, T.A. : The suppressor-cell network in cancer. *New Engl. J. Med.* 299, 1335 (1978)
- 23 Blaeser, B. : *Proliferationskinetik im peritumoralen Entzündungsfeld menschlicher Kehlkopf-Carcinome.* Med. Diss., Münster 1975

- 24 Brown, A.M., Lally, E.T., Frankel, A. : Ig A and Ig G content of the saliva and serum of oral cancer patients. *Archs oral Biol.* 20, 1 (1975)
- 25 Brown, A.M., Lally, E.T., Frankel, A., Harwick, R., Davis, L.W., Romminger, C.J.: The association of the Ig A levels of serum and whole saliva with the progression of oral cancer. *Cancer* 35, 1154 (1975)
- 26 Burkhardt, A., Bommer, G., Gebbers, J.-O., Höltje, W.-J. : Die Riesenzellbildung bei Bleomycintherapie oraler Plattenepithelcarcinome. Enzymhистоchemische, elektronenmikroskopische und ultrahistochemische Untersuchungen. *Virchows Arch. Path. Anat.u. Histol.* 369, 197 (1976)
- 27 Burkhardt, A., Seifert, G.: Morphologische Klassifikation der oralen Leukoplakien. *Dtsch. med. Wschr.* 102; 223 (1977)
- 28 Burkhardt, A. : Der Mundhöhlenkrebs und seine Vorstadien. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York 1980
- 29 Bustamante, R., Faure, M., Bejui, F., Thivolet, J. : Quantitative immunocytochemical study of plasma cells in skin tumoral reaction. *Eur. J. Cancer* 14, 1043 (1978)
- 30 Burnett, F.M. *Transplantation Reviews* 7, 3 (1971)
- 31 Burns, J. : Immunohistological methods and their application in the routine laboratory. *Recent Adv. in Histopathology* 10, 337 (1978)
- 32 Cannell, H. : Oral cancer and immunity. *Brit. J. Oral Surg.* 11, 171 (1973)
- 33 Cerotti, J.-C., Brunner, K.T. : Cell-mediated cytotoxicity, allograft rejection and tumor immunity. *Adv. in Immunology* 18, 67 (1974)
- 34 Cochran, A.J. : Histology and prognosis in malignant melanoma. *J. Path.* 97, 459 (1969)
- 35 Cottier, H. : Pathogenese, Band 1 und 2; Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1980
- 36 Csaba, G., Acs, T., Horváth, C., Mold, K. : Mast cell and Plasmacyte Reaktion to induce Homologous and Heterologous Tumours. *Brit.J. Cancer* 15, 327-335 (1961)

- 37 Dabelsteen, E. : Cytological and immunological approaches to prognosis of oral premalignant lesions. In : Oral premalignancy. Ed. : I.C. MacKenzie, E. Dabelsteen, C.A. Squier. University of Iowa pp 335-350 1980
- 38 Dean, J.H., McCoy, J.L., Cannon, G.B., Leonard, C.M., Perlin, E., Kreutner, A., Oldham, R.K. Hebermann, R.B.: Cell-mediated immune responses of breast cancer patients to autologous tumor-associated antigens. J. Nat. Cancer Inst. 58, 549-555 (1977)
- 39 DeLellis, R.A., Sternberger, L.A., Mann, R.B., Banks, P.M. Narkane, P.K.: Immunoperoxidase techniques in diagnostic pathology. Amer. J. Clin. Path. 7, 483 (1979)
- 40 Donat, R. : Die Reaktionen des lymphatischen Gewebes beim Krebs. Z. Krebsforschung 29, 577 (1929)
- 41 Edelmann, G.M. : The structure and function of antibodies. Sci. Amer. 123, 3 (1970)
- 42 Eder, M., Gedigk, P.: Lehrbuch der allgemeinen Pathologie und pathologischen Anatomie. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1984
- 43 Ehrlich, P.: Beiträge zur Theorie und Praxis histologischer Untersuchungen In: Collected Papers of Paul Ehrlich, Ed.: F. Himmelweit 1956 Pergamon Press London-New York, Vol. 1, pp. 65-98 (1878)
- 44 Ehrlich, P.: Beiträge zur experimentellen Pathologie und Chemotherapie Akademische Verlagsgesellschaft Leipzig, p. 162 (1909)
- 45 Fayos, J.V., Lampe, J. : Treatment of squamous cell carcinoma of the oral cavity. Amer. J. Surg. 124, 493 (1972)
- 46 Fischer, B., Fischer, E.R. . Role of Mast cells in Tumor Growth. Arch. Path. 79, 185-204 (1965)
- 47 Fischer, W. : Über " Abwehr "-Vorgänge im Körper bei Geschwülsten. Zentralbl. Allg. Path. 91, 301 (1954)
- 48 Fromme, H. : Demonstration über das Verhalten von Mastzellen beim Karzinom. Zentralbl. Gynäk. 30, 1146-1147 (1906)

- 49 Graham, S., Dayal, H., Rohrer, T., Swanson, M., Sultz, H., Shedd, D.,
Fischerman, S. : Dentition, diet, tobacco and alcohol in the epi-
demiology of the oral cancer. J. Nat. Cancer Inst. 59, 1611 (1977)
- 50 Harrold, C.C.: Management of cancer of the floor of the mouth. Am.J. Surg.
122, 487 (1971)
- 51 Helfrich, G.B., Nickels, M.E., El-Domeiri, A., Das Gupta, T.K.: Manage-
ment of cancer of the floor of the mouth. Am.J. Surg. 124, 559 (1972)
- 52 Hellström, J.K., Hellström, K.E.: The role of immunological enhancement
for the growth of autochthonous tumors. Transplant. Proc. 3, 721 (1971)
- 53 Hellström, J.K., Hellström, K.E.: Adv. immunol. 18, 209-277 (1974)
- 54 Henney, Ch.S.: On the mechanism of T-cell mediated cytotoxicity. Transplant.
Rev. 17, 37 (1973)
- 55 Henney, Ch.S.: Mechanisms of tumor cell destruction. In: Mechanisms of
tumor immunity. Ed.: J. Green, St. Cohen, R.T. McClasky; p. 55.
John Wiley and Son, New York-London-Sydney-Toronto 1977
- 56 Hurlimann, J., Lichea, M., Ozzello, L.: In vitro synthesis of immunoglobu-
lins by dysplastic and neoplastic human mammary tissue. Cancer Res. 36,
1284 (1976)
- 57 Innes, J.R.M. : Vergleichende Untersuchungen der sogenannten Umgebungs-
reaktion der Tumoren und ihrer Metastasen. Z.Krebsf. 40, 526 (1934)
- 58 Joachim, H.L.: The stromal reaction of tumors: An expression of immune
surveillance. J. Natl. Cancer Inst. 57, 465 (1976)
- 59 Johansson, B., Ljungqvist, A. : Immunglobulin-Lokalisation in Harnblasen-
Tumoren. Acta path. microbiol. Scand., Sect. A 82, 559 (1974)
- 60 Johnston, W.D., Ballantyne, A.J.: Prognostic effect of tobacco and al-
cohol use in patients with oral tongue cancer. Amer. J. Surg. 134, 444
(1977)

- 61 Jeffris, R., Mathews, J.B.: Structural studies of human Ig D paraproteins.
Immunol. Rev. 37, 25 (1977)
- 62 Kahlson, G., Rosengren, E. : New Approaches to the Physiology of Histamine. Physiol. Rev. 48, 155-231 (1968)
- 63 Kikuchi, K., Ishii, Y., Ueno, H., Koshiba, H.: Cell mediated immunity involved in autochthonous tumor rejection in rats. Ann. New York Acad. Sci. 276, 188 (1976)
- 64 Kjaer, M., Bendixen, G.: Tumor-directed cellular hypersensitivity by leucocyte migration in patients with renal carcinoma. Ann. N.Y. Acad. Sci., 276, 260 (1976)
- 65 Klein, G., Sjörgen, H.O., Klein, E. Hellström, E.: Cancer Research 20, 1561 (1960)
- 66 Knapp, W., Frischauf, H., Samec, V.: Zelluläre Immunreaktionen im Alter. In: Hämatologie im Alter Ed.: J. Böhnelt, R. Heinz, A. Stacher, Urban und Schwarzenberg, Wien-München-Baltimore 1982
- 67 Koch, H.: Karzinome der Mundhöhle. Westdt. Verlag Opladen 1974
- 68 König, W. : Über die Bedeutung von Mastzellen im Benzpyrentumor der Ratten. Z. exp. Med. 126, 64-72 (1955)
- 69 Koshland, M.E. : Structure and function of the J-chain. Adv. Immunol.(1975)
- 70 Kräutle, G, Teufel, M., Grube, D. : Immunhistochemische Darstellung von Peptidhormonen in endokrinen Zellen. mta praxis 28 (1982)
- 71 Lachmann, P.: Tumor immunology: a review. J. Royal Society Med. 77, (1984)
- 72 Lai a Fat, R.F.M., Cormane, R.H., Van Furth, R. : An immunhistopathological study on the synthesis of immunoglobulina and complement in normal and pathological skin and the adjacent mucosa membranes. Brit. J. Dermatol. 90, 123 (1974)

- 73 Lascano, E.F.: Mast cells in human tumors. *Cancer* 6, 327-338 (1972)
- 74 Lewis, M.G.: Immunology of human malignant melanoma. In: *Immunological Aspects of Neoplasia II*. Ed.: V. Anderson Vol. 5, pp. 44-65, Munksgaard, Copenhagen 1972
- 75 Lewis, M.G., Proctor, J.W.: Cellular localisation of immunoglobulin within malignant melanoma. *Brit. J. Cancer* 33, 260 (1976)
- 76 Löning, Th., Burkhardt, A., Seifert, G., Gebbers, J.O.: Zur Typisierung der Immunglobuline in oralen Leukoplakien und Karzinomen. *Dtsch. Z. Mund-Kiefer-Gesichts Chir.* 1, 168-177 (1977)
- 77 Löning, Th. : *Immunpathologie der Mundschleimhaut*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York 1984
- 78 Lund, C., Sjøgaard, H., Elbrond, O., Jorgensen, K., Andersen, A.P. : Epidermoid carcinoma of the lip. Histological grading in clinical evaluation. *Acta Radiol.* 14, 465 (1975)
- 79 Martin, E.D., Rain, B., Brunaud, M.D., Chevrier, J. : Immunfluorescence study of plasmocytes in stroma-reaction of gastric carcinoma and narrowing mucosa. VIth Congress European Society of Pathologie 1977
- 80 Mauch, H. : Immunglobulin D, *Dtsch. med Wschr.* 106, 686-689 (1981)
- 81 Nakane, P.K., Pierce, G.B.: Enzym-labeled antibodies; preparation and application for the localisation of antigens. *J. Histochem.* 14, 929-931 (1968)
- 82 Nathrath, W.B.J. : Organ and tumour antigens in malignant disease: a review. *J. Royal Society Med.* 71 (1978)
- 83 Nathrath, W.B.J., Wilson, P.D., Trejdosiewicz, L.K.: Immunohistochemical demonstration of epithelial and urothelial antigens at the light- and electron microscope levels. *Acta histochem. Suppl.* 25, 73-82 (1982)
- 84 Natvig, J.B. : Lokalisation og Gm Markers to different Molecular regions of the Fc-Fragment. *Clin. exp. Immunol.* 8, 685 (1971)
- 85 Natvig, J.B. : Human Immunglobulins: classes, subclasses, genetic: variants and idiotypes. *Adv. Immunology* 16, 1 (1973)

- 86 Nelson, K., Pollack, S., Hellström, K.E. : In vitro synthesis of tumor specific factors with blocking and antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADC) activities. Int. J. Cancer 16, 932 (1975)
- 87 Niksic, M., Balogh, M. : Die Serumimmunglobuline bei Patienten mit Malignomen des Kehlkopfes und des Rachens. Laryng. Rhinol. 55, 882 (1976)
- 88 Noltenius, H. : Systematik der Onkologie. Verlag Urban und Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore 1981; Band 1, pp. 440-477
- 89 Old, L.H., Benacerraf, B., Carke, D.A., Carswell, E.A., Stockert, E. Cancer Res. 21, 1281 (1961)
- 90 Pepys, J., Edwards, A.M. : The mast cell, its role in health and disease. Pitman Medical Publishing Co. Ltd. 1979
- 91 Perlmann, P., Perlmann, H. : Cytotoxic lymphocytes. Mechanisms of action and targetcell destruction. Int. Arch. Allergy 41, 36 (1971)
- 92 Petersen, W. : Beiträge zur Lehre von Carcinom. Bruns`Beitr. 32, 543 (1901)
- 93 Prehn, R.T.; Main, J.M. : J. of Natl. Cancer Inst. 18, 769 (1957)
- 94 Ribbert, H. : Heilungsvorgänge im Carcinom nebst Anregung zu seiner Behandlung. Dtsch. med. Wschr. 10, 278 (1916)
- 95 Rowe, D.S., Crabb, P.A., Turner, M.W.: Immunglobulin D in serum, body fluids and lymphoid tissue. Clin. exp. Immunol. 3, 477 (1968)
- 96 Sauer, H.R., Burke, E.M. : Prognosis of testicular tumors. J. Urol. 62, 69 (1949)
- 97 Scheurlen, P.G.: Humorale Immunreaktionen und benigne Paraproteinämien im Alter. In: Hämatologie im Alter Ed. J. Böhmel, R. Heinz, A. Stacher Urban und Schwarzenberg, Wien-München-Baltimore 1982
- 98 Schmiegell, W.H., Hamann, A., Thiele, H.G. : Darmassoziiertes Immunsystem Dtsch med. Wschr. 107, 267-270 (1982)

- 99 Schultz-Coulon, H.J., Schmidt, W. : Zur Bedeutung des Alkoholabusus für Ätiologie, Verlauf und Prognose von malignen Mundschleimhaut- und Oropharynx Tumoren. IINO 30, 9-13 (1982)
- 100 Schwick, H.G., Bräuer, H. : Exempla immunologica, Behringwerke 1980
- 101 Scott, K.G., Scheline, R.R., Stone, R.S. : Mast cells and Sarcoma growth in the Rat. Cancer Res. 18, 927-931 (1958)
- 102 Sedlacek, H. : Pathophysiological aspects of immune complex diseases. Part I + II, klin. Wschr. 58, 534/593 (1980)
- 103 Seifert, G., Burkhardt, A. : Neuere morphologische Gesichtspunkte bei malignen Tumoren der Mundschleimhaut. Dtsch. med. Wschr. 102, 1596-1601, (1977)
- 104 Seiler, F.R. : Struktur und Wirkungsweise von Antikörpern. In: Fortschritt und Fortbildung in der Medizin. Dtsch Ärzteverlag Köln, 1982
- 105 Selye, H. : The Mast Cells, Butterwrth, Washington 1965
- 106 Simu, G., Csaba, G. : Mast cells in Tumor-bearing Patients. Acta morphol. Acad. Sci. Hung. 20, pp. 327-338 (1972)
- 107 Staemmler, M. : Untersuchungen über das Vorkommen und Bedeutung histiogener Mastzellen unter normalen und pathologischen Verhältnissen. Frankf. Zschr. Path. 7, 391-436 (1921)
- 108 Szpak, C.A., Stone, M.J., Frenkel, E.P. : Some observations concerning the demographic and geographic incidence of carcinoma of the lip and buccal cavity. Cancer 40, 343-348 (1977)
- 109 Taylor, C.R., Burns, J. : The demonstration of plasma cells and other immunoglobulin-containing cells in formalinixed, paraffin-embedded tissue using peroxidase labelled antibody. J.Clin.Path. 27, 14 (1974)
- 110 Taylor, C.R. : Immunperoxidase techniques, Practical and theoretical aspects. Arch. Path. Lab. Med, 102, 113 (1978)
- 111 Thomas, L. : In: Cellular and Humoral Aspects of the Hypersensitive States. Ed.: H.S. Lawrence, Hoeber and Horper, New York, p 529 1959

- 112 Thomasi jr. T.B. : Gamma-A-Globulins: first line of defense. In: R.A. Good
D.W. Fisher: Immunobiology. Sinauer, Stanford/Conn. 1970
- 113 UICC - Union International Contre le Cancer: TNM-Klassifikation der malignen
Tumoren. 3. Auflage, Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York 1979
- 114 Viac, J., Bustamante, R., Thivolet, J. : Characterization of mononuclear
cells in the inflammatory infiltrates of cutaneous tumors. Brit.J.Derm
97, 1 (1977)
- 115 Vorlaender, K.O. : Immunologie. Thieme Verlag Stuttgart-New York 1983
- 116 Wallbach, G. : Über das sogenannte Immunitätsgewebe transplantabler
Tumoren und dessen Veränderlichkeit durch umstimmende Reize. Z.Krebsf.
29, 577 (1929)
- 117 Warnatz, H. : Die Bedeutung immunologischer Defekte für die Tumorent-
stehung. Internist 18, 264-268 (1977)

Herrn Prof. M. Eder möchte ich an dieser Stelle ganz herzlich für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes und die freundliche Aufnahme im Pathologischen Institut der Universität München danken.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. R. Bassermann für die Überlassung des Themas und die fruchtbare Diskussion der Ergebnisse, ohne die eine Fertigstellung der Arbeit unmöglich gewesen wäre.

Ganz besonders möchte ich mich auch bei Herrn Dr. J.W.B. Nathrath bedanken, der durch die Einführung in die Methodik, die Anregung bei der Durchführung und der Durchsicht des Manuskripts in großem Maße zum Gelingen der Untersuchung beigetragen hat.

Für die Hilfe bei der Herstellung der histologischen Schnitte, der Beratung bei den Spezialfärbungen und der Auswertung sei hier Frau Kirkpatrick, Frau Sabo und Frau Schwaiger besonders gedankt.

Lebenslauf

Geboren wurde ich am 17. Juni 1953 als zweiter Sohn des deutschen Ehepaares Anton und Herta Piontek, geb. Patton in Gleiwitz/Oberschlesien.

Unsere Familie siedelte 1958 in die Bundesrepublik Deutschland um, zuerst wohnhaft in Lebach, später in Neunkirchen/Saar. Hier besuchte ich auch die Volksschule von 1960 bis zur Entlassung 1968.

Von 1968 bis 1974 besuchte ich das Staatliche Aufbaugymnasium in Ottweiler. Nach bestandenen Abitur meldete ich mich zum Sanitätsdienst der Bundeswehr, im Bundeswehrzentral Krankenhaus Koblenz erhielt ich die Ausbildung zu Krankenpfleger und Desinfektor.

Nach der Entlassung aus der Bundeswehr begann ich mein Medizinstudium 1978 in Zürich in der Schweiz. Im Herbst 1979 folgte der Wechsel zur Universität München, wo ich die Ärztliche Vorprüfung im März 1981, den 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung im März 1982 und den 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung im März 1984 ablegte.

Das Praktische Jahr absolvierte ich in der Dermatologischen Klinik der Universität München (Dermatologie) und im Kreis-krankenhaus Starnberg (Innere Medizin und Chirurgie).

Den dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung legte ich am 10.04.1985 (schriftlicher Teil) und am 14.05.1985 (mündlicher Teil) ab.

Die Approbation als Arzt wurde mir am 22.05.1985 erteilt.

